

Особенности формирования иммунного ответа на инфекцию, вызванную вирусами семейства *Herpesviridae* или вирусами гепатитов С и В, у пациентов после трансплантации печени

В.П. Никулина, О.И. Андрейцева, В.Е. Сюткин, М.А. Годков, А.В. Чжао

НИИ скорой помощи им. Н.В.Склифосовского, Москва

Контакты: Никулина Валентина Петровна, sa-to@yandex.ru

Наблюдали 44 пациента в первые 2–3 недели после трансплантации печени. В зависимости от течения послеоперационного периода пациентов разделили на три группы: контрольную группу составили 28 пациентов без осложнений; в 1-ю группу вошли девять пациентов, у которых диагностирована оппортунистическая вирусная инфекция; во 2-ю группу включены семь пациентов с активацией вируса гепатита В или С в трансплантате печени. Провели анализ результатов биохимических и иммунологических исследований у пациентов по группам. Выявлены достоверные различия в изменениях иммунологических показателей у пациентов в группах с инфекцией, вызванной вирусами разных семейств.

Ключевые слова: трансплантация, иммунный ответ, лимфоциты, вирусная инфекция.

Features of formation of the immune response to infection caused by viruses of the *Herpesviridae* family or viruses of hepatitis C and B in patients after liver transplantation

V.P. Nikulina, O.I. Andreytseva V.E. Syutkin, M.A. Godkov, A.V. Chzhao

Sklifosovsky Research Institute of Emergency Care, Moscow

We observed 44 patients during the first 2 – 3 weeks after liver transplantation. Depending on the postoperative course all patients were divided into 3 groups: control group consisted of 28 patients without complications, group 1 consisted of 9 patients diagnosed with an opportunistic viral infection; group 2 included 7 patients with the activation of viral hepatitis B or C in liver transplant. We analyzed the results of biochemical and immunological studies in all groups of patients. There were significant differences in changes in immunological parameters in the groups of patients with infection caused by viruses of different families.

Key words: transplantation, immune response, lymphocytes, viral infection.

Введение

Активация вирусной инфекции у пациентов после трансплантации печени на фоне проводимой многокомпонентной иммуносупрессивной терапии значительно осложняет течение послеоперационного периода. Своевременная диагностика вирусной инфекции у пациентов, находящихся на иммуносупрессии, представляет определенную сложность. Изменения клинико-биохимических лабораторных показателей у реципиентов в ранние сроки после трансплантации печени имеют неспецифический характер

и чаще обусловлены воспалительным процессом в области операции и /или ишемическими повреждениями трансплантата. Клиническая картина вирусного процесса, как правило, стертая: лишь в отдельных случаях пациенты отмечают выраженную слабость, гипертермию, кожные проявления.

У реципиентов с циррозом печени вирусной этиологии (гепатит С, В, D) после операции практически всегда происходит инфицирование трансплантата печени вирусом гепатита. Однако активация вирусного гепатита В или С в трансплантате в ранние сроки после операции наблюдается редко

и протекает бессимптомно, что затрудняет своевременную диагностику вирусной инфекции. В данной ситуации проведение лабораторного мониторинга, включающего клинико-биохимические и иммунологические исследования, диагностику с помощью ПЦР, способствует раннему выявлению активизации вирусных гепатитов В и С, а также оппортунистической вирусной инфекции, вызванной вирусами: Эпштейн – Барра (EBV), герпеса 1 и 2 типа (HVS 1, 2), цитомегаловируса (CMV). Ранняя диагностика позволяет своевременно начать эффективную этиотропную терапию и способствует сохранению трансплантата.

В НИИ СП за период с 2000 по 2011 г. проведено 218 трансплантаций печени. За это время накоплен опыт лабораторного мониторинга пациентов в ранние сроки (первые 2–3 недели) после трансплантации, когда наиболее часто возникают осложнения различного генеза, в том числе и активация вирусной инфекции. Отработана схема динамического лабораторного обследования пациентов после ортотопической трансплантации печени (ОТП) на всех этапах наблюдения [1]. Включение иммунологического мониторинга в схему обследования реципиентов печени способствует определению ведущего этиологического фактора, вызвавшего воспалительный процесс (табл. 1). Пусковым механизмом воспалительного процесса в организме является взаимодействие иммунокомпетентных клеток и антигена (АГ). В процессе поглощения и представления АГ формируются клоны антигенспецифических клеток иммунной системы, ориентированные на элиминацию представленного АГ. Изменение количественного состава и соотношения клеток иммунной системы, участвующих в воспалительном процессе и элиминации АГ, выраженность воспалительной реакции могут

характеризовать АГ и способствовать определению природы АГ [2–4].

Целью данной работы являлся анализ особенностей иммунного ответа реципиентов на активацию вирусов семейства *Herpesviridae* и вирусов гепатитов С и В в ранние сроки после трансплантации печени.

Материал и методы

Проведен анализ клинического состояния и результатов лабораторного мониторинга 44 пациентов в ранние сроки после ОТП. В зависимости от течения послеоперационного периода пациенты разделены на три группы.

Контрольную группу составили 28 реципиентов печени, у которых ранний послеоперационный период протекал без осложнений (15 мужчин, 13 женщин, возраст от 22 до 67 лет). У 14 пациентов (50 %) этой группы причиной цирроза печени являлся вирусный гепатит. Все пациенты этой группы выписаны из клиники через 2–3 недели после трансплантации печени в удовлетворительном состоянии.

У 19 пациентов в послеоперационном периоде наблюдалась вирусная инфекция, вызванная вирусами разных семейств. У троих пациентов наблюдалось сочетание активации вирусов гепатита С и вирусов семейства *Herpesviridae* (CMV, EBV и HVS). Эти пациенты были исключены из дальнейшего анализа. Остальные 16 пациентов разделили на две группы с учетом возбудителя, вызвавшего инфекционный процесс.

В 1-ю группу включены девять пациентов (пятеро мужчин и четыре женщины в возрасте от 26 до 56 лет), у которых в послеоперационном периоде диагностирована активация вирусной инфекции, вызванной вирусами семейства

Таблица 1. Схема лабораторного обследования пациентов в первые две недели после ОТП

Вид исследования	Сроки
1. Клинический анализ крови: количество лейкоцитов, тромбоцитов, лейкоцитарная формула, гемоглобин, гематокрит	Ежедневно
2. Биохимический анализ крови: общ. белок, альбумин, глобулины, преальбумин, креатинин, мочевины, глюкоза, амилаза, АСТ, АЛТ, ГГТП, ЩФ, К ⁺ , Na ⁺ , Са ²⁺ , Mg ²⁺	
3. Исследование гемостаза: АЧТВ, МНО, ПДФ, антитромбин III, фибриноген, тромбиновое время, агрегация тромбоцитов, протеин С	
4. Определение концентрации иммуносупрессора	3 раза в неделю
5. Определение маркеров воспаления: СРБ и ПКТ	1 раз в 2 дня
6. Иммунологический мониторинг: количество лейкоцитов, лимфоцитов, популяционный состав лимфоцитов, CD4/CD8.фагоцитоз латекса, НСТ-тест спонтанный и индуцированный, уровни IgM, IgA и IgG, ЦИК	5-, 7-, 9 – 11-е сут
7. Диагностика инфекций HCV, HBV, CMV, EBV	По показаниям

Herpesviridae (CMV, EBV, HVS1,2). У четырех пациентов этой группы был выявлен CMV, у одного пациента – EBV при проведении ПЦР. У четверых больных диагноз герпетической инфекции устанавливали по клинической картине и результатам ИФА. В этой группе у пятирх (55,5 %) в анамнезе цирроз печени в исходе вирусного гепатита В или С.

Во 2-ю группу включены семь пациентов (три женщины и четверо мужчин в возрасте от 23 до 56 лет) с активацией в раннем периоде после трансплантации вирусов гепатита С или В. В раннем послеоперационном периоде, по данным ПЦР, у пятерых пациентов с гепатитом С выявлена реактивация вируса гепатита С в трансплантате. Результат количественного анализа составлял 10^7 – 10^8 МЕ/мл, что подтвердило активную репликацию вируса. У двух реципиентов с циррозом в исходе гепатита В обнаружены АТ (антитела) к HBsAg (более 200 U/lm), что также подтвердило наличие активного вирусного процесса в трансплантате печени.

Сроки клинических проявлений вирусной инфекции в раннем послеоперационном периоде по группам имели следующие отличия: у пациентов 1-й группы в среднем на 15 ± 8 -е сут после трансплантации, у пациентов 2-й группы – на 22 ± 10 -е сут, но различия по группам достоверны. У пациентов с инфекцией, вызванной вирусами семейства Herpesviridae (1-я группа) в клинической картине после ОТП отмечалась слабость, зарегистрирована температура тела от $37,3$ до 38° . При вирусной инфекции, вызванной HVS1, 2, выявлены поражения слизистой полости рта и/или носа. У одной пациентки наблюдали генерализацию герпетической инфекции с поражением слизистой носа, ротовой полости и множественными везикулярными высыпаниями на теле. У пациентов с активацией вирусов гепатитов В и С (2-я группа) течение вирусной инфекции было практически бессимптомным.

Всем пациентам в раннем периоде после ОТП проводили стандартную трехкомпонентную иммуносупрессивную терапию: кальциневриновый ингибитор (циклоспорин или такролимус), преднизолон и препарат микофеноловой кислоты (селл-септ или майфортик).

Лабораторное обследование выполняли в течение двух недель после ОТП в соответствии со схемой, представленной в табл. 1. В последующий период наблюдения реципиенты печени обследовались с интервалом в 2–3 дня, в зависимости от клинического состояния. Иммунологический

мониторинг включал: иммунофенотипирование лимфоцитов – определение относительного содержания основных популяций лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, CD3–CD16+CD56+, CD19) в периферической крови методом проточной цитометрии. Для проведения исследований использовали коммерческий набор МКАТ для четырехпараметрического анализа, включающий набор антител (АТ) для определения всего лейкоцитарного пула – CD45 (PerCP); общего маркера Т-лимфоцитов – CD3 (FITC); субпопуляции лимфоцитов CD4 (APC); цитотоксических лимфоцитов – CD8 (PE); натуральных киллерных клеток CD3–CD16+CD56+ (PE+PE) и В-лимфоцитов – CD19 (APC). В качестве негативного контроля использовали смесь конъюгированных антител с теми же флуорохромами (PerCP, FITC, APC, PE). Для цитометрического анализа использовали программу MultiTest. Фенотипирование проводилось на цитофлуориметре FACS Calibur с использованием моноклональных антител (МКАТ) фирмы Becton Dickinson (США). Определение иммуноглобулинов трех классов IgA, IgM, IgG в сыворотке крови проводили на нефелометре BN Prospec (Dade Behring, США). Уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) трех величин оценивали с помощью метода седиментации растворами полиэтиленгликоля (ПЭГ) с м. м. 6000 разных концентраций (2; 3,75; 5,5 %) на боратном буфере с pH 8,4 (Горячева Н.В. с соавторами, 1997). Фагоцитарную активность и кислородный метаболизм нейтрофилов оценивали по поглотительной способности (латекс-тест) и метаболической активности (НСТ-тест спонтанный и индуцированный) (Бумагина Т.К., 1981).

Для статистического анализа использовали программу Graph Pad Prism 5 и Excel 2007. Достоверность различий анализируемых групп определяли с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни.

Результаты и обсуждение

Изменения биохимических показателей функции трансплантата печени в ранние сроки после ОТП отмечены у пациентов всех групп, но выраженность этих изменений была различной (табл. 2).

У пациентов всех групп общий белок был ниже нормальных значений, однако у пациентов 1-й группы отмечены наиболее низкие значения общего белка сыворотки крови. Уровень билирубина в контрольной и 1-й группах определялся в пределах нормальных значений. У пациентов

Таблица 2. Результаты биохимических анализов крови пациентов с вирусной инфекцией в первые 2–3 недели после ОТП

Параметр исследования (М±SD)	Норма	Контрольная группа (n=28)	1-я группа (n=9)	2-я группа (n=7)
Общ. белок (г/л)	66–83	58,8±7,5	54,2±9,5	61,0±6,3
Билирубин общ. (мкмоль/л)	5,1–21	25,8±16,8	17,7±4,3	43,2±25,0*
АЛТ (Е/л)	0–45	105,7±98,0*	47,9±23,5**	200,7±118,3*
АСТ (Е/л)	0–35	35,6±22,1	45,8±22,4	132,2±91,5*/**
ГГТП (Е/л)	0–55	323,2±204,0*	236,6±114,8*	602,3±391,4*/**
ЩФ (Е/л)	30–120	192,7±85,0	119,3±85,8**	349,1±206,5*

* – $p < 0,05$ относительно нормы, ** – $p < 0,05$ относительно контрольной группы.

2-й группы содержание билирубина в 1,7 раза превышало значения пациентов контрольной группы. Ферменты цитолиза (АЛТ и АСТ) изменялись в широком диапазоне у пациентов всех групп. У пациентов контрольной группы отмечено увеличение АЛТ выше нормы в 2,3 раза, АСТ регистрировался в пределах нормы. У пациентов 1-й группы АСТ и АЛТ определялись в пределах нормальных значений. У пациентов 2-й группы АЛТ и АСТ превышали в 2 и 3,7 раза содержание ферментов в контрольной группе соответственно.

Повышение уровня ферментов ГГТП и ЩФ отмечено у пациентов всех групп. В контрольной группе отмечено достоверное увеличение ГГТП относительно нормы ($p < 0,05$). Значения ЩФ у пациентов контрольной группы находились у верхней границы нормы или превышали норму на 60 %. У пациентов 1-й группы отмечено достоверное увеличение ГГТП относительно нормы и ЩФ относительно контрольной группы ($p < 0,05$). У пациентов 2-й группы зарегистрированные значения ГГТП превышали в 10 раз значения нормы и в 1,9 раза значения в контрольной группе ($p < 0,05$). Значения ЩФ превышали норму в 2,9 раза ($p < 0,05$), значения в контрольной группе – в 1,8 раза.

Выраженные изменения биохимических показателей имелись у пациентов всех анализируемых групп, что снижает их значимость при проведении дифференциальной диагностики вирусных инфекций в ранний период после ОТП.

Анализ результатов иммунологических исследований позволил выявить значительные различия в содержании лейкоцитов и лимфоцитов у пациентов 1-й и 2-й групп относительно нормальных значений и в сравнении с контрольной группой (рис. 1). Количество лейкоцитов у пациентов 1-й и 2-й групп было меньше в 2,2 и 2,1 раза, чем у пациентов контрольной группы соответственно ($p < 0,05$). Достоверных различий между показателями лейкоцитов у пациентов 1-й и 2-й групп не выявлено (рис. 1а).

В первые 2–3 недели после ОТП содержание лимфоцитов у пациентов всех анализируемых групп было ниже физиологической нормы ($p < 0,05$), что, по-видимому, обусловлено проводимой трехкомпонентной иммуносупрессивной терапией (рис. 1б). Однако у пациентов 1-й группы абсолютное содержание лимфоцитов в периферической крови было в 2 раза ниже, чем у пациентов контрольной и 2-й групп

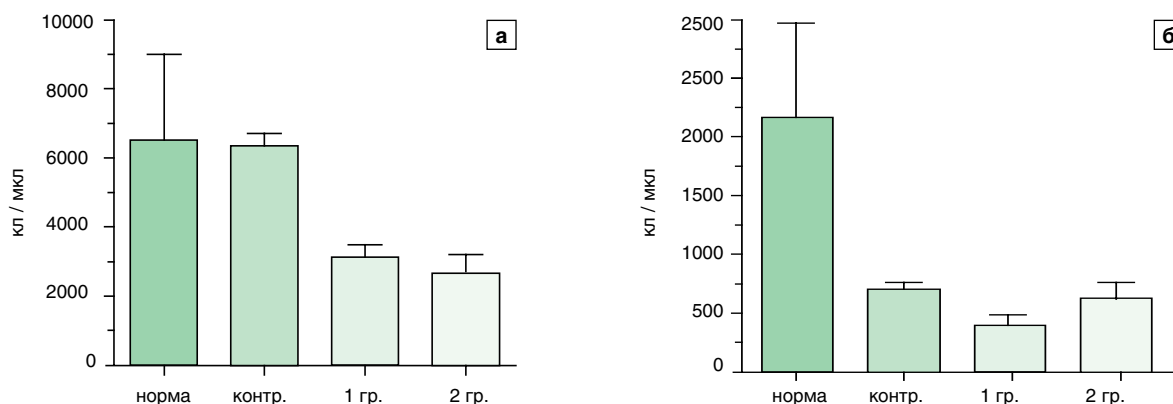


Рис. 1. Содержание лейкоцитов (а) и лимфоцитов (б) в периферической крови пациентов контрольной группы (без осложнений) и групп с вирусной инфекцией

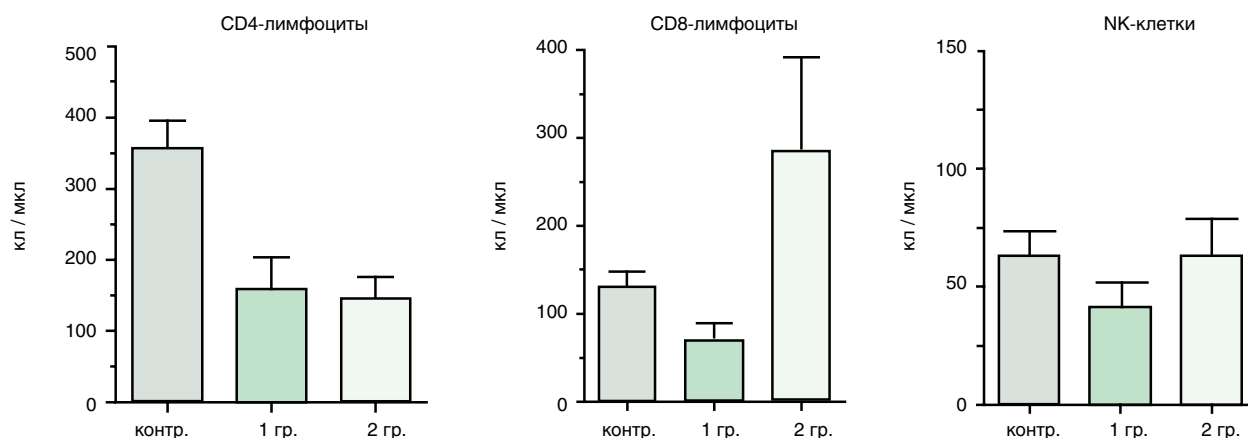


Рис. 2. Количество CD4-, CD8-лимфоцитов и NK-клеток в периферической крови пациентов в контрольной группе и в группах с вирусной инфекцией

($p < 0,05$). Количество лимфоцитов в контрольной и 2-й группах было сопоставимым (рис. 1б).

Содержание основных популяций лимфоцитов в периферической крови пациентов по группам также отличалось. У пациентов 1-й группы число CD4-лимфоцитов в 2,2 раза меньше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$), и на 7,5 % меньше, чем во 2-й группе. У пациентов 2-й группы количество CD4-лимфоцитов меньше в 2,4 раза, чем в контрольной ($p < 0,05$). Различия в количестве CD4-лимфоцитов между 1-й и 2-й группами незначительны (рис. 2).

Число CD8-лимфоцитов в периферической крови у пациентов 1-й группы в 1,9 раз меньше, чем в контрольной группе. Во 2-й группе число CD8-лимфоцитов в 2,2 раза больше, чем в контрольной группе, и в 4,1 раза больше, чем в 1-й группе ($p < 0,001$). Уровень NK-клеток в крови пациентов 1-й группы меньше, чем у пациентов контрольной и 2-й групп в 1,5 раза. Количество NK-клеток во 2-й и контрольной группах близки по значениям.

Соотношение CD4/CD8-лимфоцитов у пациентов контрольной группы, изменялось в широком диапазоне, но все значения этого показателя были выше 1,0 (рис. 3). У пациентов 1-й группы соотношение CD4/CD8-лимфоцитов было выше 1,5. Напротив, у всех пациентов 2-й группы зарегистрировано снижение соотношения CD4/CD8-лимфоцитов до 1,0 и ниже.

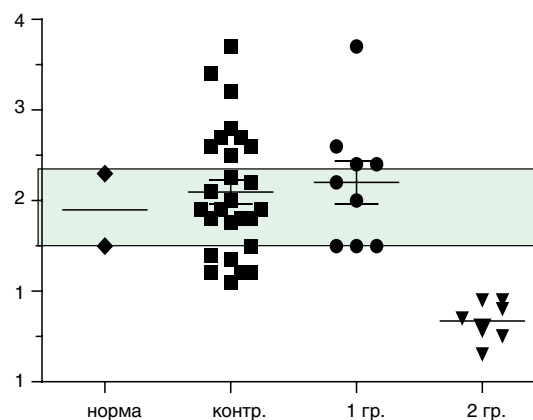


Рис. 3. Соотношение CD4/CD8-лимфоцитов у пациентов двух групп с разными видами вирусной инфекции

стрировано снижение соотношения CD4/CD8-лимфоцитов до 1,0 и ниже.

При анализе изменений показателей фагоцитарной активности и уровня кислородного метаболизма нейтрофилов достоверных различий между группами не выявлено (табл. 3).

При сравнении уровней иммуноглобулинов (А, М, G) у пациентов трех групп можно отметить, что достоверных отличий от нормальных значений не выявлено. Однако в сравнении с контрольной и с 1-й группами у пациентов

Таблица 3. Показатели функции фагоцитов у пациентов анализируемых групп

Группа	Фагоцитоз	НСТ-тест спонт.	НСТ-тест индуц.
Норма	40–50 %	10–15 %	20–40 %
Контрольная	46,9 ± 10,7	13,9 ± 5,3	29,1 ± 9,9
1-я	43,2 ± 11,2	13,7 ± 7,7	27,4 ± 10,8
2-я	49,6 ± 17,0	14,1 ± 5,3	35,1 ± 11,6

Таблица 4. Содержание иммуноглобулинов и уровни циркулирующих иммунных комплексов у пациентов анализируемых групп

Группа	Иммуноглобулины (Ig) (M ±SD) г/л			Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) (M± SD)		
	IgA	IgM	IgG	Большие (2 % ПЭГ)	Средние (3,75 % ПЭГ)	Малые (5,5 % ПЭГ)
Норма	1,8–2,4	1,1–2,1	10–14	20–35	36–55	56–140
Контрольная	2,4±1,2	1,5±0,9	8,4±3,8	25,1±21,0	85,0±43,6	177,5±78,4*
1-я	1,9±0,9	1,7±1,2	8,6±2,8	23,0±18,9	79,3,8±42,8	165,3±101,7
2-я	2,4±1,1	1,8±0,8	11,9±2,9**	40,7±30,7	122,9±90,2*	289,1±100,7*/**

* – $p < 0,05$ относительно нормы, ** – $p < 0,05$ относительно контрольной группы.

2-й группы уровень IgG был достоверно выше ($p < 0,05$) (табл. 4).

Содержание крупных ЦИК у пациентов контрольной и 1-й групп соответствовало нормальным значениям. У пациентов 2-й группы среднее значение этого показателя превышало значение в контрольной группе на 60 %. Уровни средних и малых ЦИК в 1-й группе относительно контрольной группы отличались незначительно (табл. 4). Наиболее выраженные отличия в содержании средних и малых ЦИК относительно контрольной группы имелись у пациентов 2-й группы: содержание средних ЦИК повышено в 1,4 раза, малых ЦИК – в 1,6 раза ($p < 0,05$).

Таким образом, при сравнении результатов биохимических исследований отмечены нарушения функции трансплантата печени у пациентов всех групп в ранние сроки после ОТП. Наиболее выраженное увеличение ферментов печени выявлено у пациентов 2-й группы, что согласуется с активностью репликации вирусов гепатитов (HCV и HBV) по данным ПЦР и выраженностью иммунного ответа на персистенцию вируса в крови у реципиентов.

При анализе иммунологических показателей у всех пациентов после ОТП с вирусными осложнениями мы наблюдали значительное снижение количества иммунокомпетентных клеток в периферической крови. Однако формирующаяся лейкопения была более выражена у пациентов с активной репликацией вирусов гепатитов (2-я группа). Абсолютное число лимфоцитов во 2-й группе в 2 раза больше, чем у пациентов 1-й группы, число эффекторных цитотоксических CD8-лимфоцитов достоверно больше у пациентов 2-й группы ($p < 0,05$) и, как следствие, соотношение основных субпопуляций лимфоцитов (CD4/CD8) у пациентов 2-й группы меньше 1,0. Число NK-клеток также выше у пациентов 2-й группы.

Показатели гуморального иммунитета у пациентов 1-й группы с оппортунистической вирусной инфекцией (CMV, EBV, HVS1,2) практически

не отличались от значений в контрольной группе. Усиление синтеза Ig G и больших, средних и малых иммунных комплексов у пациентов 2-й группы, вероятнее всего, связано с активностью вирусного гепатита и нарушениями функции трансплантата.

Вышеприведенные данные иммунологического обследования двух групп пациентов с вирусными осложнениями в раннем периоде после ОТП, вызванными вирусами семейства Herpesviridae (1-я группа) и вирусами гепатитов С и В (2-я группа), подтверждают наличие особенностей в формировании иммунного ответа на вирусы разных семейств.

Особенностью взаимодействия вируса и организма-хозяина является отработанная в процессе эволюции способность вируса блокировать процессы активации и пролиферации иммунокомпетентных клеток. Это приводит к снижению выраженности иммунного ответа на вирус и длительной персистенции вируса в организме. В настоящее время известно несколько механизмов ускользания вируса от иммунного надзора. Вирусы могут индуцировать апоптоз лимфоцитов, подавлять пролиферацию иммунокомпетентных клеток вирусными белками, нарушать представление вирусного антигена антигенпрезентирующим клеткам (АПК) и лимфоцитам [5–8]. При инфицировании вирусами гепатитов (С и В) доказана способность вирусов увеличивать популяцию Treg (Т-регуляторные клетки), подавляющих пролиферацию антигенспецифических цитотоксических CD8-лимфоцитов. При этом вирусемия выше у пациентов с более значительным уровнем Treg [6, 9]. Лейкопения и лимфопения, практически всегда наблюдаемые у пациентов с вирусной инфекцией, являются результатом подавления вирусом пролиферации иммунокомпетентных клеток и/или усиление процессов апоптоза.

В опубликованных за последние годы работах приводятся доказательства влияния природы

антигена (АГ) на процессы формирования иммунного ответа и образование клонов иммунокомпетентных клеток, ориентированных на удаление определенного АГ из организма. В настоящее время считается, что под влиянием АГ происходит созревание наивных CD4-лимфоцитов и образование субпопуляций CD4-лимфоцитов: Th1, Th², Th17 и Treg. После созревания лимфоцитов происходит дальнейшая дифференцировка и пролиферация антигенспецифических лимфоцитов и формирование клона клеток, способных индуцировать иммунологические реакции, направленные на элиминацию внедрившегося АГ. В ряде работ приводятся доказательства регулирующей роли Treg на формирование иммунного ответа и на выраженность иммунных реакций при воздействии АГ [3, 4, 10, 11]. При воздействии вируса на иммунную систему организма-хозяина происходит чрезмерная активация и пролиферация Treg, которые синтезируют противовоспалительные цитокины IL-4 и IL-10. Воздействие этих цитокинов приводит к торможению внутриклеточных процессов и/или запускаются механизмы апоптоза клеток иммунной системы. В результате количество иммунокомпетентных клеток уменьшается и происходит выраженное снижение иммунного ответа на вирус. При этом, вероятно, происходит конкурентное подавление Treg пролиферации Th17-лимфоцитов и снижение синтеза IL-17 и IL-8, являющихся мощными хемоаттрактантами. В итоге нарушается миграция нейтрофилов из депо в кровеносное русло и в очаг воспаления, формируется нейтропения [3, 12, 13, 14]. Подобное влияние вируса на иммунную систему организма-хозяина является одним из механизмов защиты вируса от уничтожения иммунокомпетентными клетками и приводит к персистенции вируса в организме и хронизации вирусного процесса.

У пациентов, получающих после трансплантации органов иммуносупрессивную терапию, направленную на подавление пролиферации лимфоцитов, вирусная инфекция приводит к еще более выраженной лимфо- и нейтропении. Этот процесс мы наблюдали у пациентов 1-й и 2-й групп при сравнении с контрольной группой. Причем необходимо отметить, что по количеству лейкоцитов достоверных отличий между пациентами с вирусной инфекцией, вызванной вирусами различных семейств, не было отмечено, а вот лимфопения была достоверно более выражена у пациентов с оппортунистической инфекцией (1-я группа).

При презентации вируса поврежденной клеткой в комплексе с молекулой МНС I наивным

цитотоксическим CD8-лимфоцитом происходит созревание и увеличение клона вирусоспецифических цитотоксических CD8-лимфоцитов, атакующих инфицированную или поврежденную клетку. Одновременно, с уничтожением мишени, цитотоксические CD8-лимфоциты и NK-клетки синтезируют цитокины IL-2, IF- γ , которые стимулируют созревание наивных (Th0) CD4-лимфоцитов и дальнейшей пролиферации Th1-лимфоцитов. Th1-лимфоциты, в свою очередь, синтезируют IL-2, IF- γ и стимулируют дальнейшую пролиферацию эффекторных цитотоксических клеток [10, 11, 15–18]. Усиление продукции IF- γ на раннем этапе иммунного ответа на вирусный АГ приводит к формированию пула иммунокомпетентных клеток, ориентированных на элиминацию вируса, т.е. вирусоспецифических CD8-лимфоцитов и NK-клеток. Таким образом, увеличение количества лимфоцитов в периферической крови пациента с вирусной инфекцией происходит, вероятнее всего, в основном за счет цитотоксических CD8-лимфоцитов и NK-клеток [11, 19–21]. При этом может не увеличиваться абсолютное число клеток, но происходит смещение баланса популяции CD3-лимфоцитов в сторону CD8-лимфоцитов и снижение соотношения CD4/CD8 до 1 и ниже, что было отмечено в ряде исследований [6, 19, 22].

Подобное увеличение количества CD8-лимфоцитов и NK-клеток мы наблюдали у пациентов 2-й группы. Причем содержание эффекторных CD8-лимфоцитов у пациентов 2-й группы было достоверно выше, чем в контрольной и 1-й группах. У пациентов 1-й группы с инфекцией, вызванной вирусами семейства Herpesviridae, отмечено снижение в периферической крови содержания CD8-лимфоцитов в сравнении с пациентами контрольной и 2-й групп.

В публикациях последних лет имеются данные о возможной цитолитической активности CD4-лимфоцитов [22–24]. Авторы этих работ предполагают, что CD4-лимфоциты приобретают цитолитическую активность при поражении вирусной инфекцией (CMV, EBV, HVS1,2 и др.) АПК (антигенпрезентирующих клеток), т.е. дендритных клеток, моноцитов, макрофагов. В этом случае эффекторная цитотоксическая активность CD4-лимфоцитами, вероятнее всего, осуществляется в процессе презентации вирусного АГ инфицированной АПК CD4-лимфоцитам, которые распознают поврежденную клетку (АПК) и уничтожают ее. В процессе иммунного ответа они начинают пролифериро-

вать, количество эффекторных цитолитических CD4-лимфоцитов увеличивается и соотношение CD4/CD8 может смещаться в сторону CD4-лимфоцитов [22–24]. Возможно, данный механизм иммунного ответа на оппортунистическую вирусную инфекцию имел место у пациентов 1-й группы, т.к. именно у них мы наблюдали относительно большее количество CD4-лимфоцитов, чем у пациентов 2-й группы. Вероятно, именно в результате этого варианта иммунного ответа соотношение CD4/CD8 у пациентов 1-й группы было выше 1,0 и достоверно выше, чем у пациентов 2-й группы.

У шестерых пациентов наблюдаемых групп в первые 2–3 недели после ОТП отмечались нарастание слабости, повышение температуры тела до 38°, увеличение билирубина и ферментов печени, что было расценено как клинические и лабораторные признаки острого клеточного отторжения (ОКО). Результаты иммунологических тестов, проведенных у пациентов в этот период, свидетельствовали об активации вирусной инфекции. В связи с подозрением на ОКО у одного пациента 1-й группы и у пятерых 2-й группы была проведена диагностическая биопсия. В двух случаях (у пациентов 1-й и 2-й групп) было диагностировано ОКО 1–2 балла по Banff. В одном случае (у пациента 2-й группы) ОКО 3

балла по Banff, не требующее проведения пульсотерапии. У пятерых пациентов 2-й группы в биоптатах трансплантата печени были выявлены признаки активного вирусного гепатита.

Выводы

Приведенные клинические наблюдения указывают на схожесть клинической и лабораторной картины ОКО и вирусных инфекций. В подобных ситуациях проведение иммунологического исследования необходимо для уточнения патогенеза воспалительного процесса. Результаты иммунологического мониторинга позволили на основании анализа количественного состава и соотношения иммунокомпетентных клеток в периферической крови провести дифференциальную диагностику между осложнениями различной природы и установить правильный диагноз, что и подтвердили результаты биопсий, проведенных у наблюдаемых пациентов.

Таким образом, полученные нами результаты иммунологического мониторинга пациентов после трансплантации печени с вирусной инфекцией выявили различия при формировании иммунного ответа на вирусы разных семейств. Полученные данные могут служить основанием для проведения дифференциальной диагностики вирусных инфекций разных семейств вирусов.

Литература

1. Трансплантация органов и тканей в многопрофильном научном центре / под ред. М.Ш.Хубутия. – М.: АирАрт, 2011. – 420 с.
2. Иммунологические исследования при трансплантации печени: роль в дифференциальной диагностике инфекционного воспалительного процесса и острого отторжения / В.П. Никулина [и др.] // Рос. аллерг. жур. – 2011. – №4, вып. 1. – С. 262–264.
3. Hammerich, L. Role of IL-17 and Th17 cells in liver diseases [Электронный ресурс] / L. Hammerich, F. Heymann, F. Tacke // Clin.Dev. Immunol. – 2011. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3010664/>
4. Th17 responses and host defense against microorganisms: an overview / F.L. Van de Veerdonk [et al.] // BMC Rep. – 2009. – Vol. 42 (12). – P. 776–787.
5. Dendritic cell inhibition is connected to exhaustion of CD8+ T cell polyfunctionality during chronic hepatitis C virus infection / I.G. Rodrigue-Gervais [et al.] // J. Immunol. – 2010. – Vol. 184 (6). – P. 3134–3144.
6. Immunomodulation by hepatitis C virus-derived proteins: targeting human dendritic cells by multiple mechanisms / D.K. Krishnadas [et al.] // Int. Immunol. – 2010. – Vol. 22 (6). – P. 491–502.
7. Schneider-Schaulies, S. Silencing T cells or T-cell silencing: concepts in virus-induced immunosuppression / S. Schneider-Schaulies, U. Dittmer // J.Gen. Virol. – 2006. – Vol. 87 (Pt. 6). – P. 1423–1438.
8. Increased hepatitis C virus (HCV) – specific CD4+CD25+regulatory T-lymphocytes and reduced HCV-specific CD4+ T cell response in HCVinfected patients with normal versus abnormal alanine aminotransferase levels / F. Bolacchi [et al.] // Clin. Experiment. Immunol. – 2006. – Vol. 144 (2). – P. 188–196.
9. Circulating Toll-like receptor (TLR) 2, TLR4, and regulatory T cells in patients with chronic hepatitis C / J.P. Wang [et al.] // APMIS. – 2010. – Vol. 118 (4). – P. 261–270.
10. Ярилин, А.А. Транскрипционные регуляторы дифференцировки Т-хелперов. Обзор / А.А. Ярилин // Иммунология. – 2010. – №3. – С. 153–162.
11. Abbas, A.K. Basic Immunology. Function and Disorders of the Immune System / A.K. Abbas, A.H. Lichtman. – 3rd ed. – Philadelphia : Saunders, 2009. – 322 p.
12. Increased hepatitis C virus (HCV) – specific CD4+CD25+regulatory T-lymphocytes and reduced HCV-specific CD4+ T cell response in HCVinfected patients with normal versus abnormal alanine aminotransferase levels / F. Bolacchi [et al.] // Clin. Exp. Immunol. – 2006. – Vol. 144 (2). – P. 188–196.
13. Preferential loss of Th17 cells is associated with CD4 T cell activation in patients with 2009 pandemic H1N1 swine-origin influenza A infection / T.J. Jiang

[et al.] // Clin. Immunol. – 2010. – Vol. 137 (3). – P. 303–310.

14. Microbial infection-induced expansion of effector T cells overcomes the suppressive effects of regulatory T cells via an IL-2 deprivation mechanism / A. Benson [et al.] // J. Immunol. – 2012. – Vol. 188 (2). – P. 800–810.

15. Ярилин, А.А. Основы иммунологии / А.А. Ярилин. – М. : Медицина, 1999. – 607 с.

16. Пинегин, Б.В. Макрофаги: свойства и функции / Б.В. Пинегин, М.И. Карсонова // Иммунология. – 2009. – №4. – С. 241–249.

17. Nel, A.E. Активация Т-лимфоцитов, опосредованная рецептором антигена. Часть II. Роль сигнальных каскадов в дифференцировке Т-лимфоцитов, анергии, иммунологическом

старении; их значение для иммунотерапии / A.E. Nel, N. Slaughter // Аллергология и иммунология. – 2004. – Т. 5, №2. – С. 233–248.

18. Organ Transplantation / eds. F.P. Stuart, M.M. Abecassis, D.B. Kaufman. – 2nd ed. – Georgetown, Texas : Landes Bioscience, 2003. – 619 p.

19. Симонова, А.В. Фенотип лимфоцитов при инфекционных заболеваниях человека / А.В. Симонова // Иммунология. – 2002. – №5. – С. 310–313.

20. Hepatitis C virus (HCV) – specific CD8+ cells produce transforming growth factor beta that can suppress HCV-specific T-cell responses / N. Alatrakchi [et al.] // J. Virol. 2007. – Vol. 81 (1). – P. 5882–5892.

21. Cross-recognition of HLA DR4 alloantigen by virus-specific CD8+ T

cells: a new paradigm for self-nonself-recognition / M. Rist [et al.] // Blood. – 2009. – Vol. 114 (11). – P. 2244–2253.

22. Acquisition of direct antiviral effector functions by CMV-specific CD4+ T lymphocytes with cellular maturation / J.P. Casazza [et al.] // J. Exp. Med. – 2006. – Vol. 203 (13). – P. 2865–2877.

23. Пашенков, М.В. Выявление и характеристика цитолитических CD8+ и CD4+ Т-клеток / М.В. Пашенков, Н.Е. Муругина, Б.В. Пинегин // Иммунология. – 2010. – №1. – С. 4–12.

24. Пашенков, М.В. Изучение условий дифференцировки CD4+-цитотоксических Т-лимфоцитов / М.В. Пашенков, Б.В. Пинегин // Рос. аллерг. журн. – 2011. – №4, вып. 1. – С. 284–286.