УДК 616.36-002:616.61-002.2]-053.2-036.12-071.3-08

ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО СТАТУСА У ДЕТЕЙ НА ГЕМОДИАЛИЗЕ ДО И ПОСЛЕ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ ГЕПАТИТА В

[1]Чингаева Г.Н., [2]Абеуова Б.А., [1]Наушабаева А.Е., [1]Кабулбаев К.А.

[1]Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, Алматы, e-mail: gulnarn@mail.ru;
[2]Карагандинский государственный медицинский университет, Караганда, e-mail: babeuova@mail.ru

У детей с HBV-инфекцией, находящихся на программном гемодиализе, применяли противовирусный препарат ламивудин. Стимуляция иммунной системы иммуномодулятором способствовала улучшению показателей иммунного статуса и повышению показателя сероконверсии до 100%. Установлена положительная коррелятивная связь Kt/V с титром анти-HBs – $r = 0,876$ ($p < 0,001$). Тогда как в группе с титром антител более 100 мМЕ/мл – Kt/V был 1,69 ± 0,12, что говорит об эффективном гемодиализе улучшающим ответ на вакцинацию.

Ключевые слова: иммунный статус, гемодиализ, вирусный гепатит В, вакцинация, терминальная хроническая почечная недостаточность

IMMUNE STATUS PECULIARITIES IN PEDIATRIC HEMODIALYSIS PATIENTS PRIOR TO AND AFTER VACCINATION AGAINTS HEPATITIS B

[1]Chingayeva G.N., [2]Abeuova B.A., [1]Naushabayeva A.E., [1]Kabulbayev K.A.

[1]The Kazakh National Medical University named after S.D. Asfendiyarov, Almaty, e-mail: gulnarn@mail.ru;
[2]The State Medical University of Karaganda, Karaganda, e-mail: babeuova@mail.ru

In this study pediatric patients on program hemodialysis were administered an antiviral drug lamivudine. Stimulation of the immune system by immunomodulating drug allowed to improvement of the immune status indicators and seroconversion indicator increasing up to 100%. A positive correlation of Kt/V with anti-HBs antibody titers was noted: $r = 0,876$ ($p < 0,001$), while in the group with antibody titers more than 100 mIU/ml the Kt/V was 1,69 ± 0,12 indicating an effective hemodialysis which improves an immune response to vaccination.

Keywords: immune status, hemodialysis, virus hepatitis B, vaccination, end-stage renal disease

Одним из факторов, влияющих, а иногда и определяющих прогноз болезни или преморбидного состояния при различной патологии является состояние иммунного статуса пациентов. Клинико-иммунологические исследования последних лет доказывают, что одним из патогенетических симптомов терминальной хронической почечной недостаточности (ХПН) является вторичный иммунодефицит, развивающийся вследствие снижения иммунологической реактивности, способствующий развитию затяжных хронических заболеваний почек [1, 3, 9].

Хроническая болезнь почек (ХБП) уже на ранних этапах сопровождается снижением иммунитета, обусловленная основным заболеванием, приведшим к ХПН. Уремия, неадекватный диализ, использование низких по биосовместимости материалов для диализа, гиперпаратиреоидизм, анемия, перегрузка железом и нарушение питания способствуют депрессии иммунитета [2, 4, 9].

У больных терминальной ХПН вследствие свойственного им иммунодефицита эффективность вакцинопрофилактики гепатита В существенно ниже, несмотря на иммунизацию двойной дозой вакцины (обычно 40 мкг) при 4-кратном введении по схеме 0–1–2–6 месяцев [3, 5].

Цель исследования – изучить прогностическое значение отдельных иммунологических показателей у больных V стадией хронической болезнью почек и гепатитом В, находящихся на программном гемодиализе в комплексе с противовирусной терапией.

Материал и методы исследования

Исследования проводились на базе отделения гемодиализа Республиканской детской клинической больницы «Аксай». Определение маркеров вирусного гепатита В: HBsAg, анти-HBcore IgM, анти-HB core total (суммарный), анти-HBs количественный, HBeAg, анти-HBe и анти-HCV выполняли методом иммуноферментного анализа (ИФА) на автоматическом анализаторе «AxSym» фирмы «Abbot» с применением тест-систем этой же фирмы гепатитов проведено *в* лаборатории Научного центра педиатрии и детской хирургии МЗ РК. Для изучения иммунного статуса определяли число Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов – CD4 и Т-супрессоров – CD8, соотношение CD4/CD8, концентрацию основных иммуноглобулинов (IgA, IgG, IgM), некоторых интерлейкинов (ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10), фактора некроза опухоли – альфа (ФНОα), интерферон-гамма (ИФН-γ) и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в периферической крови [6, 7, 8].

Детям при отсутствии поствакцинального иммунитета против вируса гепатита В (HBV) или снижении титра анти-HBs < 10 мМЕ/мл по данным ИФА исследования проводилась повторная вакцинация. При отсутствии и/или снижении титра анти-HBs < 10 мМЕ/мл, проводилась повторная вакцинация Энджерикс^{B} внутримышечно, по усиленному методу в диализной стадии – четырехкратно в двойной дозе (20 мкг) по схеме 0–1–2–6 месяцев и по схеме 0–1–6 месяцев в комбинации с иммуномодулятором левамизол в дозе 1 мг/кг 1 раз в день после каждого сеанса гемодиализа в течение 6 месяцев.

У 11 детей с HBV-инфекцией, находящихся на программном гемодиализе, применяли противовирусный препарат ламивудин («Зеффикс», GlaxoSmithKline). Детям с поздней стадией ХБП, учитывая снижение клиренса креатинина, начальная доза препарата была 1 мг/кг в сутки. Учитывая проведение сеансов гемодиализа 2–3 раза в неделю, дальнейшей корректировки дозы не потребовалось. Средняя продолжительность терапии ламивудином составила – 18,7 ± 0,98 месяцев (минимально – 12 мес., максимально 24 мес.) Группу сравнения составили 27 детей с ХБП 5 стадией, вакцинированные двойной дозой по усиленной схеме 0–1–2–6 месяцев и дети, вакцинированные в двойной дозе по схеме 0–1–6 месяцев, без иммуномодулятора. Контрольная группа – 28 здоровых детей, сопоставимых по полу и возрасту, вакцинированные стандартным методом Энджерикс^{B}.

Результаты исследования и их обсуждение

При исследовании показателей субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови в обеих группах детей с 5 стадией ХБП выявлено достоверное снижение абсолютной и относительной концентрации зрелых Т-лимфоцитов (CD3) – 35,9 ± 3,09 и 34,2 ± 1,47 % соответственно ($p < 0,001$), Т-хелперов/индукторов (CD4) – 27,0 ± 1,48 и 28,9 ± 0,72 % соответственно ($p < 0,001$), естественных киллеров (CD16) – до 3,30 ± 0,33 и 3,63 ± 0,19 % соответственно ($p < 0,001$) и В-лимфоцитов (CD72, $p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой

Исследование цитокинового профиля позволило установить значительные его изменения. Отмечалось достоверное увеличение в сыворотке крови концентрации ИФНγ ($p < 0,001$) и ФНОα ($p < 0,001$), со снижением ИЛ-4 и ИЛ-10 ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Уровни иммуноглобулинов в группах были в пределах нормы, но уровни IgM и IgA достоверно различались с контрольной группой ($p < 0,001$). Снижение относительной и абсолютной концентрации В-лимфоцитов, цитотоксических клеток, характеризующие недостаточность В-зависимого звена иммунной системы и низкое содержание в крови зрелых Т-лимфоцитов свидетельствуют об угнетении как клеточного, так и гуморального звеньев иммунитета у детей на ПГД.

После завершения вакцинации было проведено повторное исследование показателей. В группе детей, вакцинированных в комбинации с левамизолом, отмечено улучшение иммунного ответа с повышением показателей CD3, CD4, CD16 до уровня контрольной группы. Соотношение CD4/CD8 значительно не различалось с контрольной группой. В свою очередь уменьшились ИФНγ, ФНОα и количество ЦИК, соответственно увеличилось количество ИЛ-4 (В-клеточного стимулирующего фактора), который является антагонистом ИФНγ и подавляет цитотоксическую активность Т-лимфоцитов. Повысилась концентрация ИЛ-10, одного из важнейших регуляторных цитокинов. Пациенты, продуцирующие высокий уровень ИЛ-10, характеризуются уменьшением уремии и хронического диализ-индуцированного воспаления, соответственно и улучшением ответа на вакцину. В контрольной группе отмечались некоторые положительные сдвиги со стороны показателей клеточного и гуморального иммунитета, однако они достоверно различались от группы, вакцинированной в комбинации с иммуномодулятором, так CD3, CD4, CD16 увеличились незначительно ($p < 0,05$).

Высокая частота и скорость инфицирования HBV больных на гемодиализе при неэффективности вакцинопрофилактики гепатита В, повышает возможность заражения и характеризуется быстрым исчезновением антител из крови при их уровне ниже 100 мМЕ/мл. Это определяют актуальность выделения прогностических критериев низкой эффективности иммунизации в условиях лечения ПГД.

Для выделения прогностических критериев вакцинопрофилактики гепатита В первоначально определили коэффициент корреляции некоторых клинических, биохимических и иммунологических параметров, исследованных на момент начала иммунизации, с log-трансформированными значениями титра анти-HBs к 3-му и через 6 месяцев после первого введения вакцины в группе больных вакцинированных без левамизола (табл. 1).

Удалось выявить связь интенсивности промежуточного ответа на вакцину с числом В-лимфоцитов ($p < 0,000003$) и концентрацией IgM в крови ($p < 0,00007$), а также окончательных результатов иммунизации с уровнем IgM ($p < 0,02$) и концентрацией ИЛ-2 ($p < 0,01$).

Мы сравнили средние величины анализируемых признаков в зависимости от величин титра анти-HBs через 3 и 6 месяцев после начала иммунизации. Первую группу составили пациенты с отрицательным или слабым ответом на вакцинацию (титр

анти-HBs < 100 МЕ/л), вторую – лица с достаточным уровнем титра антител (титр анти-HBs > 100). По данным исследования выявлено, что коэффициент Kt/V, число В- и Т-лимфоцитов в периферической крови, в том числе уровень Т-хелперов, концентрации IgM и ИЛ-2 через 3 месяца после начала вакцинации были статистически значимо ниже в группе пациентов с отрицательным или слабым ответом (табл. 2).

Таблица 1

Связь показателей иммунного статуса с титром анти-HBs

Показатели	*n*	M ± m, %	Коэффициент корреляции по Спирмену	Уровень значимости для коэффициента корреляции
Через 3 месяца				
$CD16^+$, 10^9/л	27	0,36 ± 0,03	0,56	0,000005
IgM, мг/мл		0,86 ± 0,04	0,49	0,00007
Через 6 месяцев				
IgM, мг/мл	27	0,76 ± 0,03	0,35	0,02
ИЛ-2, пкг/мл		14,65 ± 1,28	0,37	0,02

Таблица 2

Оценка показателей иммунного статуса в зависимости от характера иммунного ответа через 3 и 6 месяцев после начала вакцинации

Показатели	Группа больных с титром анти-HBs < 100 мМЕ/мл, *n* = 10	Группа больных с титром анти-HBs > 100 мМЕ/мл, *n* = 17	P
	1	2	
Через 3 месяца			
коэффициент Kt/V	1,17 ± 0,10	1,69 ± 0,12	< 0,05
$CD3^+$, 10^9/л	0,62 ± 0,02*	1,13 ± 0,11	< 0,001
$CD4^+$, 10^9/л	0,38 ± 0,07*	0,79 ± 0,05	< 0,001
$CD16^+$, 10^9/л	0,25 ± 0,04*	0,39 ± 0,03	< 0,01
IgM, мг/мл	0,73 ± 0,05	1,10 ± 0,06	< 0,001
ИЛ-2, пкг/мл	3,33 ± 0,33*	4,74 ± 0,35	< 0,05
ЦИК, у.е.	65,8 ± 3,32*	56,0 ± 2,3	< 0,05
Через 6 месяцев			
IgM, мг/мл	0,75 ± 0,06*	1,09 ± 0,05	< 0,001
ИЛ-2, пкг/мл	3,21 ± 0,30*	4,70 ± 0,29	< 0,05

Примечание – * – достоверное отличие между 1 и 2 группами.

Уровень ЦИК у этих больных оказался выше по сравнению с больными, имевшими достаточный ответ на вакцину.

Низкий уровень Kt/V является показателем неадекватного диализа. Установлена положительная коррелятивная связь Kt/V с титром анти-HBs – $r = 0,876$ ($p < 0,001$). Тогда как в группе с титром антител более 100 мМЕ/мл – Kt/V был 1,69 ± 0,12, что говорит об эффективном гемодиализе улучшающим ответ на вакцинацию. То есть чем ниже коэффициент очищения мочевины, тем меньше эффективность диализа, соответственно низкий уровень защитных антител, чем выше коэффициент, тем лучше ответ на вакцинацию против гепатита В.

После завершения вакцинации в группе пациентов с сероконверсией, концентрации IgM и ИЛ-2 в крови сохранились на низких уровнях, чем в группе с серопротекцией, различия статистически достоверные ($p < 0,001$), что вероятнее всего, является предиктором неадекватного ответа на вакцинацию. Нами установлено, что прогностическую значимость при низкой эффективности иммунизации через 3 месяца от начала вакцинации имеют количество В-лимфоцитов и концентрация IgM, а через 6 месяцев – концентрации IgM и ИЛ-2 в крови. При этом IgM является универсальным предиктором, поскольку связан как с промежуточными, так и с окончательными результатами вакцинации.

Заключение

Таким образом, повышенная продукция провоспалительных цитокинов ассоциируется с нарушенной иммунной системой. Клеточный иммунитет ухудшается на гемодиализе за счет уменьшения активации Т-клеток, проявляющееся снижением $CD4^+$, $CD8^+$, продукции ИЛ-2. Снижение $CD4^+$ Т-лимфоцитов-хелперов сказывается как на функции цитотоксических Т-клеток, так и на активности В-лимфоцитов, вырабатывающих протективные антитела (анти-HBsAg). Кроме того, подавлен специфический антительный ответ (IgG, IgA, IgM), несмотря на то, что в количественном отношении их уровень оставался нормальным. Сниженный иммунитет характеризуется снижением ИЛ-10, ответственного за эффективное подавление активации HBV, как у здоровых лиц, так и у больных на гемодиализе. Пациенты с ТПН с низкой продукцией ИЛ-10 демонстрируют отсутствие или низкий ответ на вакцинацию против гепатита В. Активное образование ИЛ-10 оказалось связано с эффективной иммунизацией против гепатита В и наоборот. «Негативные» факторы – возраст и пол также влияют на сероконверсию у гемодиализных пациентов. В результате снижения иммунитета диализные больные не в состоянии адекватно реагировать на вакцинацию против гепатита В, они вырабатывают низкие титры антител и не в состоянии поддерживать достаточный уровень антител длительное время по сравнению со здоровой популяцией. У детей с терминальной почечной недостаточностью имеет место вторичный иммунодефицит, усугубляющий ответ на вакцинацию против гепатита В. Проведение коррекции приводит к улучшению эффективности вакцинопрофилактики и соответственно уменьшает риск инфицирования вирусным гепатитом В пациентов с терминальной почечной недостаточностью. Кроме того, выявлена корреляционная зависимость результатов вакцинации от эффективности гемодиализа, вследствие чего оптимизация проведения диализа приведет к улучшению поствакцинального иммунитета.

Предпринятые в данной работе попытки ускорить иммунный ответ на вакцинацию введением иммуномодуляторов показывают перспективность такого подхода. В конечном итоге, у детей с иммуносупрессией после введения иммуностимулятора возрастает способность к продукции специфических антител на рекомбинантную вакцину. Известно, что иммуномодулирующее действие левамизола проявляется восстановлением нарушенных показателей клеточного и гуморального иммунитета и увеличением продукции специфических антител. Полученные данные позволяют рекомендовать для стимуляции иммунного ответа при вакцинации против гепатита В у иммуносупрессивных детей левамизол.

Список литературы

1. Бикбов Б.Т. Анализ выживаемости и факторов риска неблагоприятных исходов у больных на программном гемодиализе: дис. … канд. мед. наук: 14.00.41. – М., 2004. – 155 с.

2. Зубкин М.Л. Вирусные гепатиты. Особенности в условиях заместительной терапии хронической почечной недостаточности // Нефрология и диализ. – 1999. – Т.1, № 2–3. – С. 25–29.

3. Костерова Е.М. Течение вирусных гепатитов В И С у больных хронической почечной недостаточностью, получающих лечение методом хронического гемодиализа: автореф. дис. … канд. мед. наук. – СПб., 2000. – 19 с.

4. Chalasani N., Smallwood G., Halcomb J. et al. Is vaccination against hepatitis B infection indicated in patients waiting for and after orthotopic liver transplantation // Liver Transplant Surg. – 1998. – Vol. 4. – P. 128–132.

5. CDC. Recommendations for preventing transmission of infections among chronic haemodialysis patients // MMWR. – 2001. – Vol. 50. – P. 1–43.

6. Descamps-Latscha B., Chatenoud L. T cells and B cells in chronic renal failure // Semin. Nephrol. – 1996. – Vol. 16, № 3. – P. 183–191.

7. Gerez L., Madar L., Shkolnik T. et al. Regulation of interleikin-2 and interferon-y gene expression in renal failure // Kidney Int. – 1991. – Vol. 40. – P. 266–272.

8. Renier Litjens N.H., Huisman M., van den Dorpel M., Henricus Betjes M.G. Impaired Immune Responses and Antigen-Specific Memory CD4 + T Cells in Hemodialysis Patients // J Am Soc Nephrol. – 2008. – Vol. 14. – P. 556–345.

9. WHO Expanded Programme on immunization. Hepatitis B control though immunization. Global programme for vaccines and immunization sub-committee meeting of the scientific advisory group of experts. – Geneva, 1995. – 334 p.