

© Коллектив авторов, 2012

А.Е. Лаврова, Л.Н. Варначева, Е.И. Шабунина, Е.А. Галова,
Н.И. Толкачева, Т.И. Долгинская

РОЛЬ ГЕРПЕСВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ В ГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С ПРИ ПЕРИНАТАЛЬНОМ ИНФИЦИРОВАНИИ

ФГБУ «Нижегородский научно-исследовательский институт детской гастроэнтерологии»
Минздравсоцразвития России, г. Нижний Новгород, РФ

Обследованы 40 детей в возрасте от 24 месяцев до 7 лет (Ме возраста 3,6 года) с хроническим гепатитом С (НСV) при перинатальном инфицировании. 75% обследованных инфицированы герпесвирусами, из них 12 детей – вирусом герпеса человека 6-го типа (HHV6), 18 человек – HHV6+вирусом Эпштейна–Барра и/или цитомегаловирусом. Установлено, что наличие герпесвирусной инфекции у ребенка взаимосвязано с генотипом, репликативной активностью НCV-инфекции, аутоиммунной реактивностью.

Ключевые слова: дети, гепатит С, герпесвирусные инфекции, аутоиммунитет.

40 children aged 24 months–7 years (mean age 3,6 years) with chronic hepatitis C (HCV) with perinatal virus transmission were examined. 75% of patients were infected with *Herpes* viruses, including 12 infected with human *Herpes* virus type 6 (HHV6), 18 – with HHV6+Epstein–Barr virus and/or *Cytomegalovirus*. Examination showed that presence of *Herpes* infection depended on genotype of patient, on replicative activity of HCV and on autoimmune reactivity.

Key words: children, hepatitis C, *Herpes* infections, autoimmunity.

Вирусный гепатит С (ГС) остается одной из серьезных медико-социальных и экономических проблем здравоохранения. По данным ВОЗ, в мире насчитывается около 170–180 млн больных ГС. В Российской Федерации, несмотря на снижение заболеваемости острыми формами болезни, отмечается рост частоты хронического ГС (ХГС) и его заболеваемость в 3 раза превышает заболеваемость хроническим гепатитом В. Особую группу пациентов составляют дети грудного возраста. Так, среди детей 1-го года жизни заболеваемость ХГС в 2009 г. составила 3,45, в 2010 г. – 3,48 на 100 тыс детского населения. Это значительно превышает общие показатели среди детей до 17 лет – 2,84 на 100 тыс детского населения [1].

Одним из преобладающих путей заражения НCV-инфекцией у детей первых лет жизни является перинатальная передача вируса от матери ребенку («вертикальный» путь). При этом частота инфицирования ребенка колеблется от 3 до 10%, риск хронизации доходит до 60–85%, что более,

чем в 15 раз превышает аналогичный показатель при вирусном гепатите В [2–4].

Характерные свойства НCV – слабая иммуногенность и непрерывное обновление антигенной структуры (ускользание от иммунного надзора). Иммуитет при ГС характеризуется как «субоптимальный», то есть не обеспечивающий контроль за инфекционным процессом [5, 6]. В патогенезе ХГС имеют значение различные факторы, в том числе: прямое цитопатическое действие вируса на гепатоцит, иммунные реакции, ассоциированные с НCV-инфекцией, и Т-клеточный цитолиз, направленный против инфицированных НCV-клеток. НCV-инфекция приводит к снижению хелперной и цитотоксической активности Т-лимфоцитов. Отличительной ее особенностью является слабая выраженность гуморального иммунного ответа, с чем связано позднее появление антител к вирусу, причем в невысокой концентрации [6, 7]. Для больных ХГС характерна иммунореактивность к собственным тканям печени [8]. Одной из причин данного феномена является вирус-ассоциирован-

Контактная информация:

Лаврова Алла Евгеньевна – д.м.н., зав. отделом «Клиника патологии детей младшего возраста»
ФГБУ «Нижегородский научно-исследовательский институт детской гастроэнтерологии»

Минздравсоцразвития России

Адрес: 603950 г. Н. Новгород, ул. Семашко, 22

Тел.: (831) 436-03-84, E-mail: lavrova26@mail.ru

Статья поступила 19.07.12, принята к печати 26.09.12.

ный иммунный ответ посредством механизмов молекулярной мимикрии [7, 9]. Исследованиями последних лет показано, что наряду с HCV ведущая роль в индукции аутоиммунных состояний принадлежит герпесвирусам: цитомегаловирусу (CMV), Эпштейн-Барр вирусу (EBV) и вирусу герпеса человека 6-го типа (HHV6) [10, 11], которые широко распространены в детской популяции. Известно, что к концу 3-го года жизни более 80% детей инфицированы различными видами герпесов, что обусловлено недостаточностью различных звеньев иммунной системы и ее неспособностью элиминировать вирус из организма [12]. Имеются доказательства гепатотропности вирусов HHV6, EBV, CMV. При этом спектр герпес-индуцированных поражений печени весьма широк – от бессимптомного гепатита до гепатоцеллюлярной карциномы [13].

Таким образом, выявление клинико-иммунологических особенностей ХГС на фоне сопутствующих герпесвирусных инфекций, которые, являясь оппортунистическими, могут существовать в активной и латентной формах, позволит внести дополнения в их характеристику у детей младшего возраста и патогенез основного заболевания.

Цель исследования – установить частоту встречаемости и определить роль герпесвирусных инфекций у детей в генезе ХГС при перинатальном пути инфицирования.

Материалы и методы исследования

Под наблюдением состояли 40 детей с ХГС с вертикальным путем передачи инфекции в возрасте от 24 месяцев до 7 лет (Ме возраста 3,6 года) – мальчиков 17, девочек 23.

Диагноз ХГС устанавливали с учетом результатов клинико-лабораторных и инструментальных методов исследования, использовалась международная классификация, принятая Всемирным конгрессом гастроэнтерологов в Лос-Анжелесе (1994). В окончательном клиническом диагнозе отражали этиологию заболевания (вирусный гепатит С – у 40 детей), фазу вирусной репликации (репликативная – у 24, нерепликативная – у 16 детей), активность (минимальная – у 11, низкая – у 24, умеренная – у 5 детей) и стадию процесса (без фиброза – у 40 детей).

Критериями вертикальной передачи HCV-инфекции считали двукратное выявления HCV РНК в крови у ребенка на первом году жизни; совпадения генотипа HCV у ребенка с раннее известным генотипом матери [14].

Молекулярно-генетическое исследование осуществлено методом полимеразной цепной реакции с гибридно-флюоресцентной детекцией в режиме «реального времени». Оно включало количественное определение РНК HCV в крови (АмплиСенс-200 HCV-240/440-ВКО), генотипирование HCV (АмплиСенс-50-R), качественное определение ДНК CMV, EBV и HHV6 (АмплиСенс

CMV/EBV/HHV6-скрин-FL) в крови. Количество РНК HCV менее 150 МЕ/мл было ниже предела чувствительности системы и расценено как неопределяемое.

Серологическая диагностика ХГС проведена методом иммуноферментного анализа (ИФА) и включала определение суммарных антител (АТ) к HCV, АТ IgG, IgM к белкам HCV (а/HCV core IgG, а/HCV core IgM, а/HCV NS3 IgG, а/HCV NS3 IgM, а/HCV NS4 IgG, а/HCV NS4 IgM, а/HCV NS5 IgG, а/HCV NS5 IgM) с указанием оптической плотности образцов, индекса avidности (ИА) а/HCV с использованием тест-систем «ДС-ИФА-АНТИ-HCV», «ДС-ИФА-АНТИ-HCV-Авидность», «ДС-ИФА-АНТИ-HCV-М», «ДС-ИФА-АНТИ-HCV-СПЕКТР-G», «ДС-ИФА-АНТИ-HCV-СПЕКТР-М» (ООО НПО «Диагностические системы», Нижний Новгород).

Определение аутоиммунных компонентов в сыворотке крови проводилось методом ИФА: антимиохондриальных, АМА-М2-субтипа (Orgentec, Германия), к микросомам печени и почек анти-LKM-1 (IMMSO, США), к печеночно-цитозольному антигену LC-1 и растворимому антигену печени и поджелудочной железы анти-SLA/LP (AESCU, DIAGNOSTICS, Германия). Антинуклеарные антитела (ANA) выявляли с помощью 2 ИФА-систем: ANA screen к 8 основным разновидностям ядерных антигенов – RNP-70, RNP/Sm, Sm, SS-B, Scl-70, centomer B, Jo-1S. За норму принимали результаты обследования, проведенного в группе условно здоровых детей (15 человек в возрасте от 1 до 7 лет).

С учетом поставленной цели среди детей с ХГС были выделены 3 группы в зависимости от обнаружения ДНК герпесвируса в крови, что свидетельствовало об активной инфекции: 1-я группа (10 детей) без сопутствующей герпесвирусной инфекции, 2-я группа (12 детей) с моно-HHV6-инфекцией, 3-я группа (18 человек) с микст-герпесвирусной инфекцией (HHV6+EBV и/или CMV),

Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью пакета прикладных программ Statistica 6,0 for Windows XP. Анализ полученных данных включал расчет среднего арифметического вариационного ряда (M) и ошибки среднего арифметического (m), медианы (Me), корреляцию γ . При анализе качественных исследований достоверность различий в частоте встречаемости того или иного признака в сравниваемых группах оценивали по критерию χ^2 . Статистически достоверными различия в сравниваемых группах считали при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что 75% детей (30 из 40) в возрасте от 24 месяцев до 7 лет с ХГС инфицированы герпесвирусами, в т.ч. 30 детей (100%) – HHV6, 11 (36,7,5%) – EBV, 6 (20%) – CMV.

Ме возраста у детей наблюдаемых групп существенно не различалась и составила в 1-й группе – 3,9 лет, во 2-й группе – 3,6 лет, в 3-й группе – 3,4 года.

Социальные условия и состояние здоровья детей с ХГС при вертикальной передаче инфекции в наблюдаемых группах существенно не различа-

Таблица 1

Частота выявления антител к белкам HCV у детей наблюдаемых групп

Показатели	1-я группа (n=10), абс./%	2-я группа (n=12), абс./%	3-я группа (n=18), абс./%	p
a/HCV сумм.	10/100	12/100	18/100	
a/HCV core IgG	8/89	12/100	18/100	
a/HCV core IgM	7/78	11/92	14/78	
a/HCVNS3 IgG	7/78	12/100	12/66	$P_{(2-3)}=0,037$
a/HCVNS3 IgM	7/78	12/100	11/61	$P_{(2-3)}=0,023$
a/HCVNS4 IgG	5/55,5	8/66	12/66	
a/HCVNS4 IgM	4/44	8/66	10/55,5	
a/HCVNS5 IgG	5/55,5	7/58	8/44	
a/HCVNS5 IgM	1/11	0	4/22	

Здесь и в табл. 2: n – число наблюдений, p – достоверность различий между группами.

лись. Большинство пациентов жили в неполных или асоциальных семьях (1-я группа – 80% из 10 человек, 2-я – 50% из 12, 3-я – 67% из 18), фактически каждый второй ребенок не получал грудного вскармливания (1-я группа – 50%, 2-я – 44%, 3-я – 67%). Из перенесенных заболеваний отмечены перинатальное поражение нервной системы на 1-м году жизни у 30% детей 1-й группы, 56% – 2-й группы, что было существенно чаще, чем в 3-й группе (17% из 18, $p=0,03$), частые респираторные заболевания – соответственно у 40, 33 и 25% детей. При поступлении в стационар физическое развитие было расценено как

нормальное соответственно у 70, 67 и 92% детей. Редкие жалобы на диспепсические расстройства предъявляли от 40 до 50% пациентов. Во всех случаях определялось небольшое или умеренное увеличение размеров печени (на 1,5–2,5 см из-под края реберной дуги по среднеключичной линии) и ее плотно-эластическая консистенция, спленомегалия отсутствовала.

Исследование частоты встречаемости основных генотипов РНК HCV показало, что у пациентов 1-й и 2-й групп существенно чаще, чем в 3-й группе регистрируется 1-й генотип (соответственно $p=0,017$; $p=0,041$) (рис. 1). Доказана прямая кор-



НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

ООО «НПО «Диагностические системы» является крупнейшим в России производителем иммунобиологических препаратов для диагностики инфекционных и неинфекционных заболеваний.

Выпуск всех диагностических наборов основан на применении высокотехнологичных современных методов, последних достижений генной инженерии и иммунохимии.

НОВОЕ ПОКОЛЕНИЕ ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ:

Вирусных гепатитов
ВИЧ-инфекции
ToRCH-инфекций
Сифилиса
Хламидиоза

Гормонов щитовидной железы
Онкомаркеров
Гормонов репродукции
Наборы для бактериологических исследований

Наш адрес:
Н. Новгород, ул. Горького, 195
Тел. канцелярии (831) 434-86-83

Департамент продаж:
Бесплатная линия 8-800-555-0300
E-mail: selling@npods.ru
www.npods.ru

реляционная зависимость между наличием герпетической инфекции и 3-м генотипом РНК HCV ($\gamma=0,61$, $p=0,0005$). Низкая вирусная нагрузка (количество РНК HCV менее 800 000 МЕ/мл) существенно чаще определялась у детей 2-й группы, чем в 1-й ($p=0,04$) и в 3-й ($p=0,017$); высокая вирусная нагрузка чаще была характерна для пациентов 1-й группы, чем 2-й ($p=0,04$) (рис. 2). Установлена обратная корреляция между наличием у пациента с ХГС герпесвирусной инфекции и степенью вирусемии ($\gamma=-37$, $p=0,002$).

Изменения биохимических характеристик ХГС у большинства детей были слабо выражены во всех трех сравниваемых группах детей. Так, активность воспалительного процесса в печени отсутствовала у 80% детей и более, умеренная степень биохимической активности определялась в 1-й группе у 20% детей, во 2-й – у 5,6%, 3-й – у 16,7%. Начальные признаки печеночной недостаточности (ПН 0–1 и ПН 1), проявляющиеся преимущественно легким снижением показателей гемостаза, имели место в 1-й группе у 40% (4 из 10) детей, в 3-й группе – у 21% (4 из 18) и существенно чаще у пациентов 2-й группы (58% из 12, $p=0,04$).

Исследование антителогенеза IgG и IgM к структурным и неструктурным белкам HCV подтвердило наличие HCV-инфекции у детей во всех трех группах, а также хроническую форму заболевания (табл. 1). При этом установлено, что только у всех детей 2-й группы определялись а/HCVNS3 IgG и а/HCVNS3 IgM, что существенно отличало их от пациентов 3-й группы ($p=0,037$; $p=0,023$).

При анализе показателя оптической плотности положительных образцов а/HCVcor IgM установлено, что она была существенно выше у пациентов 2-й группы, чем 3-й и составила соответственно $7,33 \pm 0,76$ и $4,74 \pm 0,91$ ед. опт. пл. ($p=0,043$), в 1-й группе – $6,38 \pm 0,76$ ед. опт. пл. У большинства наблюдаемых детей с ХГС индекс avidности (ИА) а/HCV IgG превышал 90%, что свидетельствовало о прочности связи между антигеном и антителом и подтверждало факт наличия персистирующего инфекционного процесса. Однако у детей 3-й группы ИА был самым низким ($88,31 \pm 3,78\%$), в отличие от детей 1-й ($94,5 \pm 1,7\%$, $p=0,041$) и 2-й ($98,5 \pm 0,74\%$, $p=0,04$) групп.

Известно, что при ХГС наличие а/HCVcor IgM коррелирует с высокой вирусемией, всегда регистрируется в фазу обострений болезни. АТ к неструктурным белкам, выполняющие ферментативные функции и не входящие в состав вириона, появляются только при деструкции вирусосодержащих клеток и могут расцениваться в качестве маркеров репликации вируса и наличия цитолиза инфицированных клеток. При этом о репликативной активности HCV-инфекции свидетельствуют а/HCVNS3 IgG и а/HCVNS5 IgG в сочетании с а/HCVcor IgM [15]. Таким образом, полученные

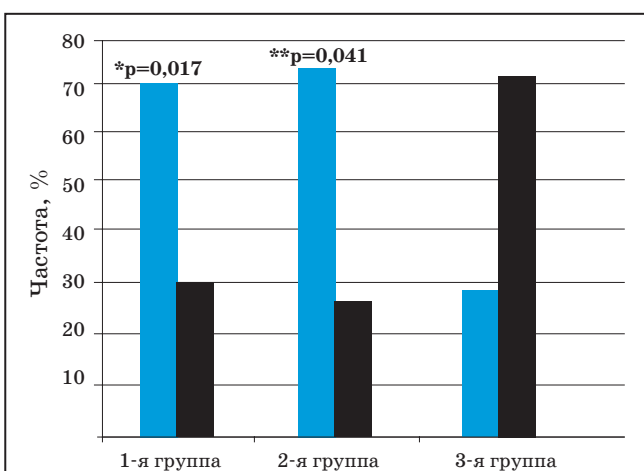


Рис. 1. Частота встречаемости генотипов HCV у детей обследованных групп.

Здесь и на рис. 2: *р – достоверность различий между детьми 1-й и 3-й групп; **р – достоверность различий между детьми 2-й и 3-й групп; 1-й столбик – генотип HCV1, 2-й столбик – генотип HCV3.

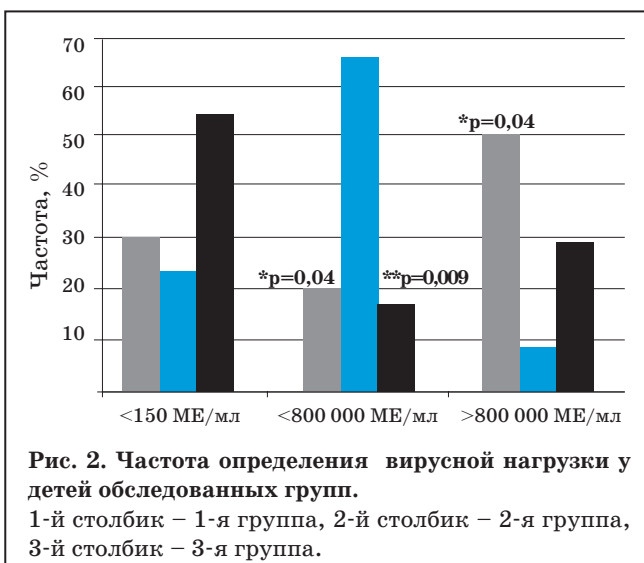


Рис. 2. Частота определения вирусной нагрузки у детей обследованных групп.

1-й столбик – 1-я группа, 2-й столбик – 2-я группа, 3-й столбик – 3-я группа.

нами данные свидетельствуют о том, что наиболее высокая репликативная активность и обострение инфекционного процесса характерны для детей с ХГС, ассоциированным с HCV-инфекцией (2-я группа).

Тенденция к более высоким показателям содержания аутоантител в крови детей с ХГС в сочетании с герпетическими инфекциями (2-я и 3-я группы) отмечена относительно всех исследованных аутоантител (табл. 2). Статистически значимые различия касались а/SLA/LP, их повышение характерно для детей с ХГС [9]. Установлено, что они превышали показатели условно здоровых детей в 1-й группе ($p=0,00005$), во 2-й ($p=0,00014$), в 3-й ($p=0,004$). Также для детей 3-й группы были характерны более высокие показатели а/LC-1, а/ANA ($p=0,029$; $p=0,01$). Получена положительная корреляция между количеством а/SLA/PL у детей с ХГС и наличием герпетической инфекции ($\gamma=0,29$, $p=0,033$). Наши данные позволяют

Таблица 2

Количество аутоантител в крови у детей наблюдаемых групп

Показатели	1-я группа (n=10)	2-я группа (n=12)	3-я группа (n=18)	Условно здоровые (n=15)
a/AMA-2, ME/мл	1,16±0,15	2,61±0,85	2,78±0,87	2,38±0,48
a/LC-1, ME/мл	1,85±0,28	2,29±0,52	2,21±0,21 P ₍₃₋₄₎ =0,029	1,59±0,15
a/LKM-1, ФЕ/мл	7,26±1,43	6,67±0,82	7,20±1,43	7,9±0,76
a/SLA/PLP, ME/мл	1,26±0,10 P ₍₁₋₄₎ =0,0005	1,92±0,33 P ₍₂₋₄₎ =0,0001	2,57±0,62 P ₍₃₋₄₎ =0,004	0,57±0,08
ANA-коэффициент позитивности	0,39±0,05	0,35±0,05	0,43±0,04 P ₍₃₋₄₎ =0,01	0,31±0,01

предположить возможное участие аутоиммунной реактивности в патогенезе ХГС у детей при вертикальной передаче инфекции. Аутоиммунизация организма при микст-герпесвирусной инфекции может быть результатом молекулярной мимикрии, когда вырабатываемые на инфекцию защитные антитела в силу способности к перекрестному взаимодействию со сходными структурами могут индуцировать аутоиммунное повреждение тканей [7–9]. Данный феномен известен для CMV, HHV6-инфекции [10, 14].

Таким образом, исследование, проведенное с целью выявления возможного влияния герпесвирусных инфекций на течение ХГС при вертикальной передаче инфекции у детей раннего и дошкольного возраста, позволило выявить неоднозначность воздействия различных герпетических вирусов (HHV6 и его сочетания с EBV и/или CMV) на клинико-иммунологические и биохимические характеристики основного заболевания.

Выводы

1. Для детей раннего и дошкольного возраста с ХГС при перинатальной передаче HCV харак-

терна высокая частота активной герпесвирусной инфекции (75% детей), в том числе HHV6 – 100% случаев, EBV – 36,75%, CMV – 20%.

2. При отсутствии герпесвирусной инфекции у детей с ХГС при вертикальном инфицировании чаще выявляются признаки, характеризующие менее благоприятный вариант течения основного заболевания: 1-й генотип HCV, высокорепликативный процесс, более высокий ИА а/HCV IgG.

3. У детей с ХГС в сочетании с HHV6-инфекцией чаще определяли прогностически неблагоприятный 1-й генотип и низкая вирусная нагрузка HCV, начальные признаки печеночной недостаточности, серологические маркеры обострения инфекционного процесса: а/HCVNS3 IgM и а/HCVNS3 IgG, высокие показатели а/HCVcor IgM и ИА а/HCV IgG.

4. У пациентов с ХГС в сочетании с микст-герпесвирусной инфекцией (HHV6+EBV и/или CMV) чаще определялись 3-й генотип HCV, высокая вирусная нагрузка, более низкие показатели а/HCVNS3 IgM и а/HCVNS3 IgG, а/HCVcor IgM и ИА а/HCV IgG, а также повышенный уровень а/LC-1, а/ANA, что может отражать феномен молекулярной мимикрии.

ЛИТЕРАТУРА

1. О санитарно-эпидемиологической обстановке в Российской Федерации в 2010 году: Государственный доклад. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011: 459 с.
2. Игнатова Т.М. Хронический вирусный гепатит и беременность. Гепатологический форум. 2009; 3: 2–11.
3. Сенягина Н.Е., Лаврова А.Е., Зорин В.В. и др. Факторы риска перинатальной передачи вирусного гепатита С. Мед. альманах. 2011; 4 (17): 34–36.
4. Airoldi J, Berghella V. Hepatitis C and pregnancy. *Obstet. Gynecol. Surv.* 2006; 61 (10): 666–672.
5. Вольнец Г.В., Потапов А.С., Пахомовская Н.Л. Повышение эффективности интерферонотерапии хронического гепатита С у детей с помощью рекомбинантного интерлейкина-2 (ронколейкина). *Рос. пед. журнал.* 2011; 6: 9–13.
6. Никитин В.Ю., Сухина И.А., Цыган В.Н. Иммунологическая характеристика стадий хронического гепатита С и оценка факторов иммунной системы как прогностических критериев течения заболевания. *Журнал инфектологии.* 2009; 1 (1): 30–40.
7. Kammer AR, Sjored H, Grabscheid B. Molecular mimicry of human cytochrome P450 by hepatitis C virus at level of cytotoxic T cell recognition. *J. Exp. Med.* 1999; 190 (2): 169–176.
8. Manns MP, Vogel A. Autoimmune hepatitis, from mechanisms of therapy. *Hepatology.* 2006; 43: 132–144.
9. Лейшнер У. Аутоиммунные заболевания печени и перекрестный синдром: Пер. с нем. М.: Анахарсис, 2005.
10. Мальцев С.Л., Мансурова Г.Ш. Роль аутоиммунных нарушений в патологии человека. *Практическая медицина.* 2010; 6 (45): 7–13.
11. Grima P, Chiavaroli R, Calabrese P, et al. Severe hepatitis with autoimmune features following a HHV6: a case report. *Cases Journal.* 2008; 1: 110–112.
12. Боковой А.Г. Герпесвирусные инфекции у детей: диагностика, клиника, лечение. Роль в формировании контингента часто болеющих детей. М.: МАКС Пресс, 2008.
13. Учайкин В.Ф., Смирнов А.В., Чуелов С.Б. и др. Герпесвирусные гепатиты у детей. *Педиатрия.* 2012; 91 (3): 136–142.
14. Pembrey L. The management of HCV infected pregnant women and their children. *J. Hepatology.* 2005; 43: 515–525.
15. Соринсон С.Н. Вирусные гепатиты. СПб.: Теза, 1997.