

CORELAȚIA
SUBPOPULAȚIILOR LIMFOCITARE
Th ȘI Ts ÎN HEPATITA VIRALĂ C ACUTĂ

Lilia COJUHARI
USMF N. Testemițanu

Summary

The correlation of lymphocytare subpopulation Th and Ts in acute viral hepatitis C

Viral hepatitis C represents a world problem at the social, economic and medical level. The study includes 64 patients with acute viral hepatitis C of 44,36±1,58 years. The onset period of acute C viral hepatitis includes the following characteristics: the decreased number of lymphocytes T and increased of large affinity the lymphocytes active E, E termostabile, B and IgG. These immune modifications have a normalization tendency in the 2nd and 3rd months of disease. Severe and moderate forms of acute C viral hepatitis are characterized by the same immune modification, such as easier forms, in cantitative level more increased. T cellular defficiency and immunosupresive situation in patients with acute C viral hepatitis after 3 months of disease constitutes the risk factors in the disease severity.

Key words: viral hepatitis C, lymphocytes T, lymphocytes B, IgG.

Резюме

Корреляция субпопуляций лимфоцитов Th и Ts при остром вирусном гепатите С

Вирусный гепатит С – это серьезная медицинская проблема мирового масштаба. В исследование включены 64 больных, перенесших острый вирусный гепатит С, средний возраст которых составил 44,36±1,58 года. В начальном периоде острого ВГС наблюдалось снижение количества Т-лимфоцитов и повышение количества Е-активных, Е-термостабильных и В-лимфоцитов, а также IgG. Эти иммунные нарушения имеют тенденцию к нормализации в течение 2-го и 3-го месяца заболевания. Тяжелые и среднетяжелые формы ВГС характеризовались теми же иммунными нарушениями, что и легкие формы, но в количественном отношении были более выраженными. Состояние Т клеточного иммунодефицита и иммуносупрессии у больных, перенесших острый вирусный гепатит С, после третьего месяца заболевания является фактором риска для хронизации процесса.

Ключевые слова: вирусный гепатит С, В-лимфоциты, IgG, Т-лимфоциты.

Actualitate

Hepatita virală C este o problemă majoră de sănătate publică. În întreaga lume, circa 170 de milioane de persoane, aproximativ 3% din populația mondială, sunt infectate cu virusul hepatic C (VHC), iar 3-4 milioane reprezintă cazurile noi înregistrate anual în lume. Incidența infecției simptomatice noi cu virusul hepatic C a fost estimată la 1-3 cazuri la 100.000 persoane anual. Evident, incidența reală a infecției noi cu VHC este mult mai mare (majoritatea cazurilor fiind asimptomatice). S-a constatat că la 80% din cei care au contractat virusul C, maladia evoluează în formă asimptomatică (adică la 100 de persoane care au contractat virusul C forma acută se întâlnește în 20% din cazuri).

Dificultățile în studierea HVC și în elaborarea unor noi metode de tratament și imunoprofilaxie sunt legate de capacitatea hepatotrofă a VHC, de imunogenitatea lui redusă și de lipsa unei culturi adecvate de celule pentru cultivarea virusului [8].

VHC, ca și celelalte virusuri hepatice, este un virus hepatotrof, dar se poate replica și în afara ficatului – în celulele mononucleare din sânge, limfocite T și B [9, 10, 13]. El este considerat un virus care „evadează” de sub supravegherea imunologică (*immune escape virus*), iar particularitățile reacțiilor imune în HVC acută o taină nedescifrată [7, 11, 12]. Un rol important în persistența virusului în organismul-gazdă infectat îl joacă eterogenitatea înaltă a VHC. Se consideră că VHC, spre deosebire de VHB, posedă capacități hepatolitice directe, el stimulează peptidele capabile să blocheze unii receptori ai limfocitelor T, indicând astfel o „anergie a limfocitelor T”, care reduce funcțiile ajutătoare și citotoxice și favorizează cronicizarea procesului infecțios [2, 4].

Mecanismul lezional indirect, mediat imunologic, este susținut de numeroase fapte: s-au evidențiat anticorpi antinucleari (AAN), anticorpi antimitocondriali (AAM), anticorpi hepatorenali, antimicrozomali (LKM), anticorpi împotriva antigenului citoplasmatic solubil al hepatocitului (SLA), anticorpi antifibră musculară netedă (SMA). S-au vizualizat agregate limfoide dense cu centrul germinativ, celule dendritice și limfocite B acti-

vate, înconjurate de limfocite T helper și T citotoxice/supresoare activate. Majoritatea limfocitelor T intrahepatice sunt LTc restricționate HLA I față de antigenii VHC. Limfocitele T citotoxice, provenite de la bolnavii HC VHC, lizează în culturi de celule hepatocitele autologe restricționate HLA I, în timp ce hepatocitele alogene nerestricționate HLA sunt ignorate. Deși răspunsul imun celular limitează temporar efectul citopatic al VHC, în majoritatea cazurilor se constată progresia leziunilor hepatice datorată persistenței VHC. Persistența VHC este rezultatul eludării sistemului imun de către VHC, prin intermediul mutațiilor genomice, al particulelor virale defective, al localizărilor extrahepatice. VHC evită inducerea unui răspuns imun specific în infecția acută. Aceasta explică frecvența mare a infecțiilor clinic inaparente și duce la instalarea infecției cronice în majoritatea cazurilor. Pacienții cu infecție acută au un răspuns puternic al limfocitelor de tip Th1 [1, 3, 6]. Rata rapidă a replicării virale este un factor important care determină epuizarea limfocitelor T și moartea lor prin apoptoză în infecția acută [5].

Rezultate și discuții

În scopul determinării statusului imun, au fost luați în studiu 60 de pacienți cu HVC acută, internați în IMSP SCBI Toma Ciorbă. Investigațiile au fost efectuate în primele zile de spitalizare (perioada de stare) și la externarea din clinică (perioada de convalescență). La 10 bolnavi (15,6%) HVC acută a debutat în formă ușoară, la 46 (71,90%) – în formă moderată și la 8 (12,5%) – în formă gravă.

La internare toți bolnavii acuzau astenie fizică (100%), la 43,75% pacienți s-au constatat dereglări dispeptice, iar 39,06% acuzau dureri în hipocondrul drept. Hepatomegalie se observa la toți bolnavii (100%); splenomegalie – la 18,7%.

Investigațiile biochimice au evidențiat o activitate citolitică înaltă. La toți bolnavii s-a constatat hiper-ALAT-emie, media constituind: 11,46±0,51 mmol/l/h, proba cu timol având valoare medie de 4,22±0,38 și bilirubina fiind de 142,67±12,87 (p<0,001). La externare din staționar activitatea ALAT s-a normalizat la 28% bolnavi.

La internare bolnavii cu HVC acută aveau dereglări ale statusului imun, mai mult sau mai puțin pronunțate. Astfel, numărul de leucocite în sângele periferic avea o tendință de descreștere, s-a înregistrat o tendință de leucopenie 5,03±0,50x10⁹/l (tabelul 1). Valoarea medie absolută a numărului de limfocite nu diferă de cea normală, însă pe fondul unei reduceri neesențiale a numărului de leucocite expresia procentuală a acestui indice depășea limitele normale la mai bine de 1/3 dintre bolnavi. Numărul de limfocite

formatoare de rozete E de mare afinitate (Ea-RFC) depășea valoarea medie normală – 0,77±0,14x10⁹/l (p<0,05). Acest indice la internare era supranormal la majoritatea bolnavilor (tabelul 1). Numărul de limfocite T totale avea tendință de reducere.

Tabelul 1

Indicii statusului imun al bolnavilor de HVC acută la internare

Indici	Valori normale	HVC acută
Leucocite (10 ⁹ /l)	6,20±0,18	5,03±0,50*
Limfocite (10 ⁹ /l)	1,84±0,07	1,75±0,14
Limfocite (%)	29,70±0,88	34,6±2,81
Limfocite Ta (10 ⁹ /l)	0,48±0,06	0,77±0,14*
Limfocite Ta (%)	26,10±1,92	44,2±7,47*
Limfocite Ttot. (10 ⁹ /l)	1,2±0,06	0,98±0,095*
Limfocite Ttot. (%)	65,2±1,43	56,0±5,48
Limfocite T term. (10 ⁹ /l)	0,07±0,01	0,16±0,04*
Limfocite T term. (%)	3,80±0,6	9,2±1,14***
Limfocite TFR-E-RFC (10 ⁹ /l)	0,89±0,03	0,84±0,14
Limfocite TFR-E-RFC (%)	48,4±1,55	48,28±8,05
Limfocite TFS (10 ⁹ /l)	0,33±0,02	0,19±0,075
Limfocite TFS (%)	18,0±0,4	10,9±4,36
Limfocite EAC-RFC (10 ⁹ /l)	0,23±0,01	0,69±0,01***
Limfocite EAC-RFC (%)	12,5±0,71	39,9±5,74***
Ig M (g/l)	1,00±0,052	1,85±0,42*
Ig G (g/l)	10,85±0,47	33,12±2,09***
Ig A (g/l)	1,65±0,099	2,24±0,45
CIC (U.E.)	44,5±10,8	138,7±32,84**
LTL	5,2±0,27	5,26±0,58
Ttot/Ta	2,5±0,19	1,28±0,16***
T/B	5,2±1,2	1,47±0,498**
TFR/TFS	2,72±0,11	4,52±1,12
N/L	1,74±0,12	1,58±0,14
Ig G/Ig M	10,8±1,0	17,7±2,04**

Notă: Asteriscul indică diferențe veridice față de valorile normale: *** – P<0,001; ** – P<0,01; * – P<0,05.

Procentul de limfocite formatoare de rozete E termostabile (9,2±1,14% față de 3,8±0,6% de persoane aparent sănătoase) este esențial crescut față de valorile normale (p<0,001) (tabelul 1). Creșterea numărului lor poate fi considerată caracteristică pentru această perioadă a HVC acute.

Numărul de limfocite formatoare de rozete E teofilin-rezistente (TFR-E-RFC, sau T helperi) la majoritatea bolnavilor se încadrează în limite normale, iar reducerea și depășirea lor se înregistrează la fel

Tabelul 2

Indicii statusului imun al bolnavilor cu HVC acută în perioada de convalescență

Indicii	Valori normale (n=55)	HVC acută (n=64)
Leucocite (10 ⁹ /l)	6,20±0,18	6,13±0,58
Limfocite (10 ⁹ /l)	1,84±0,07	2,54±0,17***
Limfocite (%)	29,70±0,88	41,4±3,12
Ea-RFC (10 ⁹ /l)	0,48±0,06	0,55±0,08
Ea-RFC (%)	26,10±1,92	22,1±1,35
E-RFCtot (10 ⁹ /l)	1,2±0,06	1,06±0,12
E-RFCtot (%)	65,2±1,43	41,8±0,85
E-RFC term. (10 ⁹ /l)	0,07±0,01	0,19±0,08
E-RFC term. (%)	3,80±0,6	7,5±1,02
TFR-E-RFC (10 ⁹ /l)	0,89±0,03	0,69±0,04***
TFR-E-RFC (%)	48,4±1,55	27,1±0,96
Limfocite TFS (10 ⁹ /l)	0,33±0,02	0,24±0,02***
Limfocite TFS (%)	18,0±0,4	9,6±0,2
EAC-RFC (10 ⁹ /l)	0,23±0,01	0,54±0,03***
EAC-RFC (%)	12,5±0,71	21,3±1,05
Ig M (g/l)	1,00±0,05	2,22±0,12***
Ig G (g/l)	10,85±0,47	31,4±5,6***
Ig A (g/l)	1,65±0,09	1,72±0,12
CIC (U.E.)	44,5±10,8	103,6±28,3*
LTL	5,2±0,27	5,78±0,32
Ttot/Ta	2,5±0,19	1,89±0,09**
T/B	5,2±1,2	1,96±0,15**
TFR/TFS	2,72±0,11	2,26±0,09
N/L	1,74±0,12	1,65±0,09
Ig G/Ig M	10,8±1,0	14,14±1,12*

*Notă: Asteriscul indică diferențe veridice față de valorile normale: *** – P<0,001; ** – P<0,01; * – P<0,05.*

de frecvent, din care cauză valorile medii (relative și absolute) ale acestui indice sunt identice celor normale. În același timp, valoarea numerică a limfocitelor T teofilin-sensibile (T supresoare) în 2/3 cazuri este redusă și în mai mult de 1/3 cazuri este crescut, practic neîntâlnindu-se în limite normale. Valorile medii ale acestui indice au tendință de reducere. Esențial crescut 0,54±0,03x10⁹/l (p<0,001) față de valorile normale este numărul de limfocite formatoare de rozete complementare (EAC-RFC, sau limfocite B). Concentrația de IgM (ce caracterizează răspunsul imun primar) depășește de 1,8 ori valoarea normală, pe când conținutul de IgG (specific răspunsului imun secundar) depășește valoarea normală de 3,1 ori. Deci, reiese că în HVC acută la această etapă predomină răspunsul imun secundar. Cele relatate se confirmă și prin devierea indicelui corelativ IgG/IgM, care în cazul HVC acute este de 14,14±1,12 (p<0,05), valoarea normală fiind de 10,8±1,0 (tabelul 1).

Creșterea numărului de limfocite EAC-RFC la această categorie de bolnavi a favorizat reducerea esențială (p<0,01) a indicelui corelativ dintre celulele T și B, iar reducerea sau creșterea numărului de celule TFS a dus la dereglări ale indicelui TFR/TFS (de imunoreglare), valori normale ale căruia se întâlnesc exantem de rar (tabelul 1).

Pe parcursul primelor două săptămâni de boală, s-a observat o ușoară tendință de leucopenie, care se dezvoltă pe contul leucocitelor neutrofile, numărul absolut de limfocite rămânând la nivel normal, fiind în ușoară creștere, însă, valoarea relativă a lor. De 1,5 ori era crescut numărul mediu de limfocite formatoare de rozete E de mare afinitate (0,84±0,14 x 10⁹ /l), cel al celulelor T totale fiind în ușoară scădere (1,4 ori). Această discordanță a capacității de rozetare a limfocitelor se observă la toți bolnavii de HCV acută și este cu atât mai pronunțată, cu cât mai gravă este starea bolnavului.

În perioada de stare a bolii se constată o mărire a numărului de limfocite formatoare de rozete E-termostabile și scăderea lor pe parcursul maladiei (tabelul 2), confirmată și prin micșorarea celulelor formatoare de rozete teofilin-rezistente. Starea de hiposupresie din primele săptămâni de boală s-a preschimbă în imunosupresie pe parcursul bolii (tabelele 1, 2).

Numărul de limfocite formatoare de rozete E termostabile continuă să crească și în a III-IV-a săptămână de boală, revenind la normal spre sfârșitul celei de a doua luni de boală. Celulele formatoare de rozete teofilin-rezistente revin la nivel normal în săptămânile II și IV și descresc din nou în lunile II și III de boală. Limfocitele teofilin-sensibile, reduse de două ori la început, cresc până la nivelul mediu normal, la care se mențin în continuare. Indicele de imunoreglare are o dinamică bine determinată: el descrește de la un nivel supranormal la unul subnormal, adică starea de hiposupresie moderată din primele săptămâni de boală se preschimbă în imunosupresie în a II-III-a lună.

După cum s-a menționat anterior, pentru HVC acută este caracteristică limfocitoza B, care crește până la nivel maxim, iar în cea de a III-IV-a săptămână de boală descrește treptat. Paralel cu acest indice, ce caracterizează imunitatea umorală, crește și concentrația imunoglobulinelor serice de clasele IgM și IgG.

Concluzii

- Maladia a evoluat preponderent în forme moderate (71,9%).
- În debut pentru HVC acută sunt caracteristice reducerea numărului de limfocite T, cu dereglări numerice ale subpopulațiilor cu funcții imunoreglatoare (TFR și TFS), și creșterea concomitentă al celui de limfocite formatoare de rozete E active, E termostabile și B, a concentrației de IgG serice. Aceste dereglări au tendință de normalizare în a II-a lună de boală și devin mai accentuate în cea de a III-a lună.
- Formele severă și moderată de HVC acută se caracterizează prin aceleași dereglări imune, ca și forma ușoară, însă în plan cantitativ sunt mai accentuate.
- Deficiența celulară T și starea de imunosupresie la bolnavii de HVC acută după a 3-a lună de boală sunt factori de risc de cronicizare a bolii.

Bibliografie

1. Alberti A., Benvegno L., *Management of hepatitis C*. J Hepatol 2003; no. 38, p. 118.
2. Alter H.I., Purcell RH., Shih J.W., et.al. *Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis*. N. Engl. J. Med. 1989; no. 321, p. 1494-1500.
3. Alter M.J., Kruszon-Moran D., Mainan O.V., *The prevalence of hepatitis C virus infection in United States 1988 through 1994*; N. Engl. J. Med., 1999, no. 341, p. 556-562.
4. Abuhl P.M., Binswanger U., Renner EL.: *Epidemiology of chronic hepatitis B and C among dialysis patients in Switzerland*, Sch. Med. Woch., 2000, no. 130, p. 341-348.
5. Andriuță C., Holban T., Deatișen V. *Hepatitele virale acute la consumatorii de droguri pe cale intravenoasă*. Al VIII-lea Congres Național de Boli Infecțioase. Mangalia, 2000, p. 62-63.
6. Anouk DEV, Kezur Patel, MD; John G. McHutchison, MD. *Future Treatment of Hepatitis C: What's Around the Corner*, Infect. Med., no. 21(1), p. 28-36, Cliggett Publishing, Division of CMP Healthcare Media, Posted 03 (24) 2004.
7. Battegey M., *Immunity to hepatitis C virus. A further piece of the puzzle*. Hepatology, 1996, v. 24, no. 4, p. 961-964.
8. Major M.E., Feinstone S.M., *The molecular virology of hepatitis C*. Hepatology, 1997, v. 32, nr. 6, p. 1527-1539.
9. Neumann-Haefelin C., Blum H.E., Chisari F.V., Thimme R, *T cell response in hepatitis C virus infection*, J. Clin. Virol., 2005, no. 32(2), p. 75-85.
10. Thomas H.C., Karayiannis P., *New hepatitis viruses*. Arroyo V., Bosh J., Bruquera M., Rodes J. (edts): *Therapy in liver diseases*, Barselona, SA, Masson 1997, p. 211-217.
11. Rebedea E, *Boli infecțioase*, București, 2000, p. 289-290.
12. Urbani S., Amadei B., Cariani E., Fiscaro P., Orlandini A., A-Missale G., Ferrari C., *The impairment of CD8 responses limits the selection of escape mutations in acute hepatitis C virus infection*, J. Immunol., 2005, no. 175(11), p. 7519-7529.
13. Zignego A.L., De CARLI M., MOTI M. et al., *Hepatitis C virus infection of mononuclear cells from peripheral blood and liver infiltrates in chronically infected patients*, J. Med. Virol., 1995, v. 47, nr. 1, p. 58-65.
14. Иванов В.В. *НС-вирусная инфекция у детей и подростков*. Учебное пособие, СПб, 2002.