DEREGLĂRILE STATUTULUI IMUN CELULAR LA PACIENŢII CU ASTM BRONŞIC ÎN ASOCIERE CU INFECŢIA CRONICĂ CU VIRUSUL HEPATIC *B* VARIANTA SEROLOGICĂ *HBsAG* NEGATIVĂ /ANTI *HBcor* TOTAL POZITIVĂ

Elena Chirvas – cercetător ştiinţific,

Laboratorul de gastroenterologie,
IP USMF „Nicolae Testemiţanu"
tel. 022 205540, 079414945, helenau.76@mail.ru

Rezumat

Astmul bronşic patogenetic este mediat de mecanisme cu implicarea reacţiilor imune umorale şi celulare. Caracter imunomediat posedă şi infecţia cronică cu virusul hepatic *B*. Dereglările imune ce se întâlnesc în astmul bronşic şi impactul infecţiei cronice cu virusul hepatic *B* asupra imunităţii pot explica frecvenţa înaltă a asocierii astmului bronşic cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă.

Cuvinte-cheie: astm bronşic, infecţia cronică cu virusul hepatic *B*, dereglările imune celulare

Summary. Disorders of the cellular immune status in patients with asthma combined with chronic infection with hepatitis B virus - serotype HBsAg negative / serotype Anti HB core positive

Pathogensis of asthma is mediated by mechanisms involving humoral and cellular immune responses. Chronic viral hepatitis *B* infection also has an immune-mediated nature. Immune disorders that are encountered in asthma and the impact of chronic viral hepatitis *B* infection on immunity may explain the increased frequency of association of asthma with chronic infection with hepatitis *B* virus - serotype HBsAg negative / serotype Anti HBcore positive**.**

Key words: asthma, chronic infection with hepatitis *B* virus, disorders of the cellular immune status

Резюме. Нарушение клеточного иммунитета у больных с бронхиальной астмой, в сочетании с хронической инфекцией вируса гепатита *B* серологического типа - HBsAg отрицательный / Anti HBcore положительный

В патогенезе бронхиальной астмы, иммунологически обусловленном заболевании, участвуют гуморальное и клеточное звенья иммунитета. Поражение печени при хронической инфекции вирусом гепатита *B*, также, является иммуно опосредованным. Иммунологические нарушения, наблюдающиеся у больных с бронхиальной астмой и влияние хронической инфекции вирусом гепатита *B* на иммунитет могут пролить свет на сочетание бронхиальной астмы с HBsAg отрицательной / anti-HBcore положительной формой хронической инфекции вирусом гепатита *B*.

Ключевые слова: бронхиальная астма, хроническая инфекция вируса гепатита *B*, клеточные иммунологические нарушения

Introducere. În patogenia astmului bronşic sunt implicate reacţii alergice mediate de IgE şi reacţii alergice mediate celular. Răspunsul imunocelular în astmul bronşic angajează prevalent limfocitele Th2, cu eliberarea citokinelor, precum interleukinele 4 şi 5 (IL-4 şi IL-5), ce stimulează creşterea celulelor *B* şi secreţia imunoglobulinelor, preponderent IgE. La rândul său IL-5 induce proliferarea şi activarea eozinofilelor. Totodată se observă şi o creştere progresivă a limfocitelor Th1, prin eliberarea moleculelor proinflamatoare: IL-2 şi interferonului γ (IFNγ), TNF-α. IL-2 induce proliferarea celulelor T, maturizarea limfocitelor T citotoxice, contribuie la proliferarea şi diferenţierea celulelor *B*, intensifică funcţia celulelor NK şi a monocitelor, stimulează producerea IFNγ, TNF, IL-6, IL-8 etc. Deci, limfocitele Th1 mediază reacţiile răspunsului imun celular şi al proceselor inlamatorii cronice, iar limfocitele Th2 controlează răspunsul imun umoral, legat de elaborarea anticorpilor. Citokinele limfocitelor Th2: IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, TGF-β, posedă în general acţiune antiinflamatoare. Limfocitele Th2 inhibă funcţiile limfocitelor Th1, deci şi a reacţiilor inflamatorii cronice şi, invers.

În astmul bronşic nonalergic (endogen, infecţios, intrinsec) "endoalergenii" sunt reprezentaţi prin produşii de deteriorare sau de toxinele bacteriilor, viruşilor din focarele de infecţie acute sau cronice, în special, din căile respiratorii superioare. Antigenii bacterieni, virali pot întreţine infecţia bronşică sau favoriza instalarea alteia. Unii autori susţin că infecţia joacă, posibil, un rol determinant, îndeosebi, la subiecţii predispuşi, cu hiperreactivitate bronşică, dar nu se poate afirma că există un astm infecţios pur, fiind vorba doar de posibilitatea modificării terenului bronşic prin factorul infecţios [14].

Pe lângă factorii etiologici cel mai frecvent incriminaţi în dezvoltarea astmului bronşic (alergeni inhalatori, alergeni alimentari, fungi, viruşi respiratori etc.), conform unor date din literatura de specialitate, se presupune şi participarea virusului hepatitei *B* în afectarea căilor respiratorii [3,9,10].

Manifestările clinice şi evoluţia infecţiei cu virusul hepatitic *B* sunt mediate de interacţiunile complexe dintre virus şi răspunsul imun al gazdei. Virusul hepatitic *B* nu este direct citopatic asupra hepatocitelor, dar interacţiunea dintre virus şi răspunsul imun al gazdei joacă un rol central în patogeneza necroinflamaţiei şi fibrozei hepatice [6]. Rolul principal în dezvoltarea răspunsului imun în infecţia VHB îl deţin reacţiile sistemului imun adaptiv (dobândit), care stau la baza patogenezei afectării hepatice şi clearance-ului virusului hepatitic *B*. Importanţa majoră în afectarea ficatului şi evoluţia HBV infecţiei îi aparţine limfocitelor citotoxice specifice (CTL). Persistenţa HBV infecţiei rerflectă incapacitatea CTL de a asigura un răspuns imun adecvat şi conduce spre dezvoltarea unui proces inflamator-necrotic lent în ficat. Astfel de inflamaţie este menţinută de CTL virusspecifice funcţional deficitare, incapabile de-a asigura clearance-ul virusului hepatic *B* din hepatocite [18]. Răspunsul imun umoral este cea de-a doua armă majoră îndreptată împotriva virusului hepatic *B*. Anticorpii VHB-specifici sunt indicatorii stadiilor maladiei [1].

Se disting cel puţin trei stări clinice ale persistenţei infecţiei cu virusul hepatic *B*: hepatita cronică virală B, purtătorii "sănătoşi" şi hepatita ocultă *B* [17].

Infecţia ocultă cu virusul hepatic *B* se consideră atunci când în sânge nu este detectat HBsAg, dar ţesutul hepatic conţine ADN VHB (indiferent de prezenţa sau absenţa în ser a ADN VHB) [16]. Se deosebesc două forme de bază ale infecţiei oculte cu virusul hepatic *B*: a) seronegativă, atunci când lipseşte orice marker serologic al infecţiei VHB şi b) seropozitivă cu anti–HBcore+, cu/fără anti-HBs [7,17].

Ca mecanisme posibile ale dezvoltării infecţiei oculte VHB sunt precăutate: 1) apariţia mutaţiilor „escape" ce perturbă sinteza HBsAg, 2) integrarea ADN VHB în cromozomul gazdei, 3) infectarea celulelor mononucleare din sângele periferic cu virusul hepatic *B*, 4) formarea complexelor imune ce conţin virusul hepatic *B*, 5) alterarea răspunsului imun al gazdei [4, 8].

Nivele scăzute ale ADN virusului hepatic *B* au fost detectate într-un şir de ţesuturi extrahepatice, in-

clusiv în celulele mononucleare ale sângelui periferic, crescând posibilitatea replicării non-hepatice a virusului hepatitic *B*, precum în nodulii limfatici, rinichi, glandă tiroidă, pancreas [2, 11]. Unice lucrări relevă şi o posibilă asociere a infecţiei HBV cu atingere pulmonară [3, 9, 10]. Astmul bronşic ce implică în dezvoltarea sa dereglări imune, "oferă" un teren imunodefectuos infecţiei HBV [Tae-Wan Kim, 2010)]. În condiţiile unei imunosupresii, statutul de infecţie ocultă virală hepatică *B* poate trece într-o exacerbare a hepatitei cronice virale *B* [Raimondo G., 2005].

Scopul lucrării

Studierea statutului imun celular la pacienţii cu astm bronşic asociat cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă.

Materiale şi metode

În studiu au fost incluşi 66 de pacienţi. Lotul martor (lotul I) a fost constituit din 10 persoane sănătoase. Lotul de pacienţi cu astm bronşic asociat cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă a fost constituit din 39 de persoane, iar lotul de pacienţi cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă fără astm bronşic a fost constituit din 27 de persoane. Fiecare lot a fost divizat în 2 grupe: A - cu nivelul ALT, AST în limitele normei şi *B* - cu nivelul ALT, AST pentru femei mai mare de 19 UI/l, iar pentru bărbaţi mai mare de 30 UI/l. Astfel lotul II A l-au reprezentat pacienţii cu astm bronşic în asociere cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă cu nivel normal al transaminazelor, iar lotul II *B* l-au reprezentat pacienţii cu astm bronşic în asociere cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă cu nivel ridicat al transaminazelor. Lotul III A l-au constituit pacienţii cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă fără astm bronşic, cu nivel normal al transaminazelor, iar lotul III *B* l-au constituit pacienţii cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă fără astm bronşic, cu nivel ridicat al transaminazelor. S-a efectuat examenul clinic şi paraclinic, cu aprecierea în ser a markerilor hepatici virali: HBsAg, anti-HBcore sumar, anti-HDV sumar, anti-HCV sumar; analizele biochimice: ALT, AST, bilirubina; aprecierea statutului imun umoral şi celular; PCR ADN-HBV, investigaţii instrumentale – USG organelor abdominale, spirografia etc.

Rezultatele obţinute şi discuţii

În hemoleucogramă cele mai înalte valori ale leucocitelor s-au apreciat la pacienţii lotului II *B* - 8.19±0.55 vs lotului martor (lotul I) - 5.83±0.53 ($p<0.01$). Diferenţă veridic statistică s-a determinat şi dintre lotul II *B* şi lotul III *B* de pacienţi - 6.11±0,39 ($p<0.01$). Majorarea leucocitelor se observă în lotul II A - 7.27±0.43 vs lotului martor (lotul I) ($p<0.05$). Deasemenea se remarcă elevarea leucocitelor în lotul II A vs lotului III A de pacienţi - 5.94±0.49 ($p<0.05$). Din cele expuse mai sus reiese, că la pacienţii cu astm bronşic asociat cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă, indiferent de nivelul transaminazelor, se apreciază valori ridicate ale leucocitelor comparativ pacienţilor cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă fără astm bronşic.

Micşorarea nivelului de limfocite în hemoleucogramă se determină în lotul II *B* de pacienţi - 24.97±0.9% vs lotului martor (lotul I) - 29.3±1.57% ($p<0.05$). În special, diferenţă veridic statistică se relevă între lotul II *B* de pacienţi şi lotul III *B* - 33.94±2.47% ($p<0.01$). Deci, din datele obţinute, constatăm, că reducerea limfocitelor din sânge s-a apreciat în lotul de pacienţi cu astm bronsic asociat cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă cu nivel ridicat al transaminazelor.

Viteza de sedimentare a hematiilor (VSH) în lotul I a constituit 7.89 mm/h. VSH a fost mai înaltă în lotul II B - 11.74±1.8 mm/h vs lotului III *B* de pacienţi - 7.13±1.3 mm/h ($p<0.05$). Deasemenea diferenţă veridic statistică se relevă între lotul II B - 11.74±1.8 mm/h şi lotui II A - 6.3±1.16 mm/h ($p<0.05$). Din aceste date se remarcă creşterea vitezei de sedimentare a hematiilor la pacienţii cu astm bronşic în asociere cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă cu nivel ridicat al transaminazelor.

Nivelul trombocitelor în hemoleucogramă în lotul martor a constituit – 255. Creşterea trombocitelor s-a apreciat în lotul II B - 299±17.84 vs lotului III B - 224.7±1.34 ($p<0.001$). Date veridic statistice se remarcă şi în lotul II A - 277.44±17.3 vs lotului III A - 255±20.21 ($p<0.05$). Din cele expuse mai sus concluzionăm, că la pacienţii cu astm bronşic asociat cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă, indiferent de nivelul transaminazelor, se apreciază valori ridicate ale trombocitelor comparativ pacienţilor cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă fără astm bronşic. Acest fenomen se explică, probabil, prin faptul că trombocitele activate, participă în patogeneza afectării ficatului şi clearance-ului virusului hepatitei *B*, cu ajutorul implicării limfocitelor CTL

virus-specifice. Conform cercetărilor M.Jannacone, în rezultatul interacţiunii CTL cu trombocitele în sinusoidele ficatului, CTL pot migra din patul vascular în hepatocit şi să realizeze efectul patogenetic/antiviral [18].

Valori crescute absolute şi relative ale limfocitelor T helper (CD4) în sânge se apreciază în lotul III *B* de pacienţi 947.61±100.41 vs lotului martor (lotul I) 606.46±55.74 ($p<0.01$) (pentru valori absolute) şi 47±3.08% vs 37.4±2.93% ($p<0.05$) (pentru valori relative). Aceeaşi legitate se observă între lotul II *B* 911.46±68.12 vs lotului martor (lotul I) 606.46±55.74 ($p<0.01$) (pentru valori absolute) şi 46.14±2.1% vs 37.4±2.93% ($p<0.05$) (pentru valori relative). Prin urmare, din datele obţinute, constatăm, că creşterea valorilor absolute şi relative ale limfocitelor T helper (CD4) s-a apreciat în loturile de pacienţi cu nivel ridicat al transaminazelor, atât la pacienţii cu astm bronşic în asociere cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă, cât la pacienţii cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă fără astm bronşic, adică, activitatea pocesului inflamator din ficat, exprimată biochimic prin creşterea transaminazelor în ser, este influienţată de nivelul limfocitelor T helper (CD4) din sânge, prin elevarea acestora.

Dezvoltarea unui răspuns CD4 MHC clasa II restricţionat către core este temporal asociat cu clearance-ul HBV în ser şi este probabil esenţial pentru un control eficient al viremiei. Acest răspuns CD4+ core specific exercită al său efect prin producerea Th-citokinelor (în hepatita acută desinestătător limitantă), dominantă fiind producerea IFN-γ, ceea ce sugerează că efectele Th1-mediate ar contribui la injuria celulară a ficatului şi însănătoşire. În timpul infecţiei VHB cronice, răspunsul T-celular HLA clasa II în sângele periferic către toţi antigenii virali, inclusiv HBcoreAg şi HbeAg, este mai puţin viguros decât la pacienţii cu hepatite acute [13]. Trei forme structurale ale proteinelor virale HBsAg, HBcoreAg şi HBeAg pot obţine diferite subseturi de celule T helper. HBeAg induce răspuns imun celular Th2 la şobolani, în timp ce HBcoreAg răspuns imun celular Th1 [5].

Valori crescute absolute şi relative ale limfocitelor B (CD20) în sânge s-a evidenţiat la pacienţii din lotul II B - 136.03±15.66 vs lotului III *B* de pacienţi - 66.82±10.62 ($p<0.001$) (pentru valori absolute) şi 7.03±0.79% vs 3.5±0.53% ($p<0.001$) (pentru valori relative). Deasemenea se apreciază elevarea valorilor absolute ale limfocitelor *B* (CD20) la pacienţii din lotul II *B* vs lotului II A - 87.9±17.57 ($p<0.05$). În lotul martor (lotul I) valorile absolute ale limfocitelor *B* (CD20) – 79.78±27.77 şi valori relative – 4.8±1.63%. Din aceste date se poate deduce, că creşterea valorilor absolute şi relative ale limfocitelor *B* (CD20) se apreciază la pacienţii cu astm bronşic în asociere cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă cu nivel ridicat al transaminazelor.

Se observă tendinţă de micşorare a valorilor relative ale limfocitelor T supresor (CD8) şi limfocitelor T- NK (CD16) din sânge în lotul pacienţilor cu astm bronşic în asociere cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă cu nivel ridicat al transaminazelor (lotul II *B*) vs lotul martor (lotul I). Conform datelor Jung Maria-Cristina and Gerd R Pape, 2002, răspunsul CTL contra infecţiei VHB la pacienţii cronic infectaţi este dificil de detectat comparativ hepatitei VHB acute autolimitante. La pacienţii cronici VHB infectaţi cu o afectare hepatică neînsemnată, dar cu un control al replicării VHB, aveau T celule CD8+VHB-specifice funcţional active în circulaţie şi în ficat [13].

Concluzii:

1. Cele mai pronunţate dereglări imune celulare s-au apreciat în lotul pacienţilor cu astm bronşic în asociere cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă cu nivel ridicat al transaminazelor.
2. Dereglările imune celulare în lotul pacienţilor cu astm bronşic în asociere cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă cu nivel ridicat al transaminazelor s-au manifestat prin: creşterea leucocitelor, micşorarea limfocitelor, majorarea trombocitelor, creşterea vitezei de sedimentare a hematiilor în analiza generală de sânge; valori crescute absolute şi relative ale limfocitelor T helper (CD4), deasemenea prin valori crescute absolute şi relative ale limfocitelor *B* (CD20) în sânge.
3. În lotul pacienţilor cu astm bronşic în asociere cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă cu nivel normal al transaminazelor s-a determinat creşterea leucocitelor şi majorarea trombocitelor în analiza generală de sânge.
4. Reducerea limfocitelor, majorarea limfocitelor T helper (CD4)) în sânge s-au evidenţiat în lotul pacienţilor cu infecţia cronică cu virusul hepatic *B* varianta serologică HBsAg negativă/Anti HBcor total pozitivă fără astm bronşic cu nivel ridicat al transaminazelor.

Bibliografie

1. Barbara Rehermann M.D., *Immune Response in Hepatitis B Virus Infection*, Seminars in Liver Disease, 2003;23(1):21-37.

2. Cacoub P., B. Terrier., *Hepatitis B-related autoimmune manifestations*, Rheum Dis Clin North Am. 2009; 35(1):125.

3. Cakir Murat, Taner Karakas, Fazil Orhan, Aysenur Okten, Yusuf Gedik, *Atopy in children with chronic hepatitis B virus infection,* Acta Paediatrica. 2007; 96:1343-1346.

4. Carreño V., Bartolomé J., Castillo I., *Occult hepatitis B virus and hepatitis C virus infections,* Rev. Med. Virol. 2008, 18: 139-157.

5. Chien-Fu Huang, Shih-Shen Lin,Yung-Chyuan Ho, *The Immune Response Induced by Hepatitis B Virus Principal Antigens*. Cellular& Molecular Immunology, 2006;3(2): 97-106.

6. Dilip Ratnam. Kumar Visvanathan, *New concepts in the immunopathogenesis of chronic hepatitis B: the importance of the innate immune response,* Hepatol Int (2008)2:S12–S18.

7. Hollinger F.B., Sood G., *Occult hepatitis B virus infection: a covert operation,* In: J. Viral Hepat., 2010, 17(1), p.1-15.

8. Ke-Qin Hu., *Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications*, Journal of viral Hepatitis. 2002, 9(4):243-257.

9. Kocabas C.N., *Do hepatitis B virus carriers develop atopic diseases?,* Allergy. 2001; 56:1100-1.

10. Koh Y.I, Choi I.S., Park C.H., Ahn J.S., Ji S.G., *The inverse association between the presence of antibody to hepatitis B surface antigen and atopy in young adults,* Korean J Intern Med. 2005; 20:210-6.

11. Lupaşco Iu., Teza de doctor în medicină *"Interrelaţia funcţiei exo-* şi *endocrine a pancreasului cu hepatita cronică"*, 2000.

12. Lupaşco Iu., *Forma HBsAg negativ*ă a maladiei ficatului, condiţionate de virusul hepatic B sau infecţia cu VHB ocultă*.,* Buletinul Academiei de Ştiinţă din Moldova, 2011; nr.3(31), p. 244-247.

13. Maria-Christina Jung and Gerd R Pape, *Immunology of hepatitis B infection,* THE LANCET Infectious Diseases, 2002; 2:43-50.

14. Onu Vera, *Astmul bronşic*, Imunitatea şi Alergia, 2007; p.154-163.

15. Protocol clinic naţional „*Hepatita cronică virală B la adult*", Sănătate Publică, Economie şi Mananagement în Medicină, 6(51)/2013, Chişinău 2013.

16. Raimondo G., Navvara G., Mondello S., et.al., *Occult hepatitis B virus in liver tissue of individuals without hepatic disease,* In:J.Hepatol., 2008,48, p. 743-746.

17. Torbenson M., Thomas D., *Occult hepatitis B,* The Lancet Infectious Diseases. 2002. 2:479-486.

18. В.Т. Ивашкин, Иммунная система и повреждения печени при хронических гепатитах В и С, Рос. Журн. Гастроэнтерол. Гепатол. Колопроктол., 2009; 6: 4-10.