

Odporność naturalna (wrodzona) w wirusowych zapaleniach wątroby u dzieci

Natural (innate) immunity in viral hepatitis in children

IWONA MOZER-LISEWSKA

III Katedra Pediatrii, Klinika Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań

W pracy omówiono główne czynniki i mechanizmy odporności naturalnej ze szczególnym uwzględnieniem wirusowych zapaleń wątroby typu B i C u dzieci. Podkreślono supresyjne działanie obu wirusów na różne składniki odporności naturalnej obecne w wątrobie. Wskazano na szczególną rolę tej odporności u dzieci. Tłumaczy się to przede wszystkim odmiennym i stale zmieniającym się stanem rozwijającego się układu odpornościowego dziecka. Wydaje się, że odporność naturalna jest bardziej skuteczna przeciwko infekcji HBV niż przeciw HCV, zwłaszcza we wczesnych stadiach choroby, z udziałem komórek NK, NKT, interferonu- γ i innych czynników. Chemokiny, a zwłaszcza IP-10 i Mig biorą udział w gromadzeniu i osiedlaniu się limfocytów T w zakażonej wątrobie. Istnieją wstępne dane sugerujące udział receptorów Toll-podobnych w patogenezie wirusowych zapaleń wątroby. Istnieją przesłanki sugerujące istotną rolę odporności naturalnej w przebiegu wirusowych zapaleń wątroby u dzieci.

Alergia Astma Immunologia, 2005, 10(1), 21-25

Słowa kluczowe: *odporność naturalna, HCV, HBV, dzieci*

A short characteristics of the natural (innate) immunity have been presented, with the emphasis on liver and its major pathologies, i.e. B and C viral hepatitis. The liver is rich in various components of the immune system and both HBV and HCV viruses tend to suppress their activities. Natural immunity is especially relevant in children, whose adaptive immune system is not fully mature. Natural protection against viral infection seems to be more efficient in the case of HBV than HCV, particularly in early stages of the disease when NK, NKT cells, interferon- γ , etc. participate in the process. Chemokines, especially IP-10 and Mig, contribute to the accumulation and settling of T cells in the infected liver. Some preliminary data suggest participation of Toll-like receptors in pathogenesis of virus mediated liver pathology. There are good reasons to suppose that natural immunity should be given due consideration while studying the course of viral hepatitis in children.

Alergia Astma Immunologia, 2005, 10(1), 21-25

Key words: *natural immunity, HCV, HBV, children*

Odporność naturalna (ON) czyli wrodzona lub nieswoista jest pojęciem określającym szereg czynników służących do obrony organizmu przed różnego rodzaju zagrożeniami, zwłaszcza natury infekcyjnej. ON jest bardzo stara pod względem filogenetycznym; jej mechanizmy kształciły się przez miliony lat ewolucji. Niektóre składowe ON, jak np. fagocytoza, są obecne już u bezkręgowców i pełnią istotną rolę w usuwaniu obcych substancji. Mimo braku swoistości, jaka charakteryzuje odporność nabytą, ON posiada selektywną zdolność rozróżniania „swoj-obcy”, przy czym to rozpoznanie następuje szybko, bez wstępnej aktywacji. Odporność naturalna była niedoceniana przez wiele lat rozwoju immunologii, będąc w cieniu odporności nabytej. Ostatnie lata przyniosły duży wzrost zainteresowania ON ze względu na jej uniwersalny charakter w całym królestwie fauny i brak wad odpowiedzi

nabytej, np. ON nigdy nie indukuje autoimmunizacji. Ponadto cechuje się dużą skutecznością zapobiegania patologii, zarówno u zwierząt, jak i u człowieka [1].

Obecnie mało wiadomo o udziale ON w przewlekłych wirusowych zapaleniach wątroby, zwłaszcza u dzieci. Wydaje się, że odgrywa ona istotną rolę, jako że układ odpornościowy dziecka, a zwłaszcza odporność nabyta, jest niedojrzały i pozostaje w stanie ciągłego rozwoju [2].

Odporność naturalna obejmuje zarówno czynniki humoralne, jak i komórkowe, co obrazuje tabela I. Zdecydowana większość z nich kodowana jest przez geny znajdujące się poza głównym układem zgodności tkankowej (MHC). Występowanie poszczególnych składników ON ma charakter cech dominujących. Niektóre z nich np. receptory KIR na komórkach NK wykazują znaczny polimorfizm [3].

Tabela I. Wybrane czynniki humoralne i komórkowe odporności naturalnej

Czynniki humoralne	Czynniki komórkowe
• Układ dopełniacza	• Monocyty-makrofagi
• Lizozym	• Komórki NK, NKT
• Białka ostrej fazy	• Granulocyty
• Białka szoku cieplnego (HSP)	• Komórki tuczne
• Cytokiny, chemokiny	• Komórki dendrytyczne
• Lektyna wiążąca mannozę	• Rec. Toll-podobne i inne receptory rozpoznające wzory (PRR)

Tabela II. Wybrane czynniki odporności naturalnej obecne lub produkowane w wątrobie

Humoralne
• Białka ostrej fazy
• Amyloid surowiczy A (SAA)
• Cytokiny: IL-6, TGF-beta1, TNF-alfa
• Fibronektyna
• Składowe dopełniacza
Komórkowe
• Komórki Browicza–Kupffera
• Komórki NK i NKT
• Receptory Toll-podobne (TLR)

W wątrobie występują lub są produkowane liczne czynniki odporności wrodzonej (tab. II). Wynika to prawdopodobnie z faktu, że narząd ten jest ciągle narażony na kontakt z dużą ilością różnorodnych antygenów, docierających do wątroby poprzez układ żyły wrotnej. Nie tylko komórki Browicza-Kupffera umieszczone w miejscach strategicznych wątroby, ale także same hepatocyty wykazują ekspresję receptorów rozpoznających patogeny (*pathogen recognizing receptors* – PRR), z których prawdopodobnie najważniejsze są tzw. receptory Toll-podobne (*Toll-like receptors* – TLR), o których będzie mowa później [1]. Mechanizmy ON kształcą się wczesnie w przebiegu ontogenezy; noworodek ma większość jej czynników zdolnych do działania. Odporność nabyta kształtuje się natomiast później i niektóre jej składowe, jak np. stężenie IgA, osiąga wartości dorosłych dopiero u nastolatków. Stąd można przypuszczać, że ON może mieć istotne znaczenie w chorobach infekcyjnych u dzieci.

Zaburzenia odporności naturalnej

Wirusowe zapalenia wątroby typu B i C są częstą chorobą zakaźną w populacji dziecięcej. Ich przebieg nagminnie przechodzi w stan przewlekły, co prawdopodobnie można tłumaczyć zaburzeniami odporności, tym także odporności naturalnej [4]. Wskazuje na to wiele danych.

Stwierdzono bowiem, że w przebiegu infekcji HBV i HCV u dzieci dochodzi przede wszystkim do spadku funkcji znernej monocytów. Granulocyty obojętnochłonne wykazują natomiast spadek zdolności do wybuchu tlenowego ocenianego testem redukcji błękitu nitrotetrazolowego (NBT) do formazanu. Powoduje to niską aktywność bakteriobójczą tych komórek, co w przypadku zakażonych noworodków, sprzyja nosicielstwu wirusa w późniejszych latach życia [5]. Wirusy zapalenia wątroby, głównie HCV, uszkadzają wiele składników odporności naturalnej. I tak np. białka otoczki E1 i CE1 HCV hamują dojrzewanie komórek dendrytycznych [6,7]. Komórki te jako komórki prezentujące antygen (*antigen presenting cells* – APC) mogą aktywować naiwne (przed kontaktem z antygenem) limfocyty T. Działanie hamujące na komórki dendrytyczne wywiera także wirus HBV [8]. Z kolei białko E2 wirusa HCV hamuje kinazę białkową aktywowaną przez ds RNA, co znosi działanie przeciwwirusowe interferonu- α . To samo białko hamuje funkcje komórek NK, jednego z najważniejszych czynników przeciwwirusowych [9,12]. Ponadto białka rdzenia wirusa i NS3 indukują produkcję interleukiny 10, znanej z silnego efektu immunosupresyjnego [10]. Efekt hamujący HCV dotyczy także funkcji makrofagów, co manifestuje się spadkiem produkcji interleukiny 12 i tlenku azotu [11]. Wskazuje to, że wirusy HCV w wyniku selekcji wytworzyły szereg mechanizmów przeciw ON i że odporność ta miała ważne znaczenie protekcyjne wobec wirusa zapalenia wątroby typu C w przeszłości. W przypadku infekcji HBV wydaje się natomiast, że odporność naturalna wciąż odgrywa istotną rolę, przynajmniej we wczesnych okresach zakażenia. Wykazano bowiem, że u chorych dzieci może dochodzić do spadku wiremii (HBV DNA) o ponad 80% po szczycie replikacji i przed pojawieniem się swoistych dla antygeny limfocytów TCD8+. Uważa się, że odpowiedzialne za to są komórki NK, NKT, a także makrofagi aktywowane interferonem- γ , którego wzrost stwierdza się w zakażonej wątrobie. Tego efektu nie obserwuje się natomiast w przypadku zakażenia HCV, co tłumaczy się opisanym już działaniem hamującym wirusa [9]. Wspomniany wyżej wzrost interferonu- γ dotyczy jednak wirusowego zapalenia wątroby typu B i C.

Również inne cytokiny, a także rozpuszczalne receptory dla cytokin wykazują wzrost stężeń w surowicy. Stwierdzono to w przypadku IL-18, IL-10, a także receptora dla IL-2 przed leczeniem. Po leczeniu przeciwwirusowym dochodziło jednak do spadku tych białek w surowicy [13]. Z drugiej strony wiadomo, że wydzielanie cytokin prozapalnych, takich jak TNF- α prowadzi do rozwoju martwicy komórek wątrobowych [14]. Swój niekorzystny udział ma tu prawdopodobnie również interleukina-18, indukowana przez białko X wirusa HBV [15]. Znamienny jest także stwierdzany wzrost zarówno białka, jak mRNA dla czynnika transformującego β (TGF- β)

w przewlekłym zapaleniu wątroby typu C [16,17]. Cytokina ta ma, jak wiadomo, silne działanie immunosupresyjne, ale także fibrogenne, co niewątpliwie ma swoje znaczenie w powstawaniu marskości wątroby.

Chemokiny

Chemokiny, odmiana cytokin którym pierwotnie przypisywano głównie funkcje chemoatraktantów, znane są ze swej różnorodnej roli w wielu zjawiskach biologicznych: w zapaleniu, odporności przeciwwakaźnej, angiogenezy, różnicowania komórek i innych. Wykazują ściśle współdziałanie z innymi cytokinami [18]. Dzielą się na 4 podrodziny w zależności od położenia 4 cystein w łańcuchu białkowym. Ich działanie, podobne do cytokin, uzależnione jest od ekspresji odpowiednich receptorów na komórkach. Do najbardziej znanych chemokin należy interleukina-8, mająca silny efekt chemotaktyczny wobec neutrofilów. W przebiegu zapalenia wątroby dochodzi do wzrostu ekspresji wielu chemokin, a także ich receptorów zarówno na hepatocytach, jak i na limfocytach krwi obwodowej. Stwierdzono dla przykładu, wzrost ekspresji MCP-1(CC12), IP10, SLC(CCL21), a także receptorów CXCR3, CCR7 i CR5 w zajętej wątrobie [19,20,21]. Wykryto również wzrost stężenia IP10 w surowicy. Na szczególną uwagę zasługują 2 chemokiny – IP10 i Mig, które można by nawet określić jako wątrobowo-swoiste. Są one indukowane przez interferony zarówno typu I jak i II. Ułatwiają gromadzenie się nacieków z limfocytów T oraz warunkują ich stałą obecność w wątrobie. Ponadto stymulują proliferację hepatocytów i regenerację mięszu wątrobowego [22,23]. Można więc uznać, że pełnią funkcje korzystne, z punktu widzenia gospodarza, w przebiegu choroby.

Cząsteczki adhezyjne

Komórkowe cząsteczki adhezyjne, kolejny składnik ON, mają istotne znaczenie w interakcjach komórkowych, w migracji leukocytów ze światła do tkanek, a także w osiedlaniu się komórek w mikrośrodowisku pozakomórkowym. Istnieją nieliczne doniesienia wskazujące na ich udział w patogenezie chorób wątroby. Stwierdzono np. wzrost surowiczej P-selektyny w zapaleniu wirusowym wątroby typu C. Cząsteczka ta występuje w płytkach krwi, jak również w komórkach śródbłonna. Wzrost jej stężenia w surowicy można wiązać z aktywacją płytek w przebiegu choroby [24]. Najwięcej jednak danych dotyczy międzykomórkowej cząsteczki adhezyjnej ICAM-I. Jej wzrost ekspresji na hepatocytach powoduje białko X wirusa zapalenia wątroby typu B [25]. Jej stężenie wzrasta w surowicy także w *hepatitis C*. U dzieci wykazano, że wzrost surowiczej ICAM-I koreluje z indeksem aktywności histologicznej HAI, co może mieć znaczenie praktyczne w prognozowaniu procesu włóknienia wątroby [26].

Rola receptorów Toll-podobnych

Receptory Toll-podobne (TLR) są obecnie przedmiotem intensywnych badań w immunologii klinicznej. Ich zdolność rozpoznawania tzw. wzorów molekularnych związanych z patogenami (*pathogen associated molecular patterns* – PAMP) pozwala im rozpoznawać cały szereg drobnoustrojów, a jednocześnie nie ulegać aktywacji pod wpływem własnych molekuł ustroju. Do cząsteczek PAMP należą bowiem cząsteczki nie występujące u wyższych kręgowców jak: lipopolisacharyd (LPS), kwasy teichojowe, różne wielocukry, zwłaszcza mannan, peptydoglikany, dsRNA znamieny dla wirusów, niemetylowane sekwencje CpG DNA i inne [27]. Ligandami dla TLR mogą być jednak także własne molekuły ustroju, pochodzące z uszkodzonych lub martwych komórek np. białka szoku cieplnego [28]. Receptory Toll-podobne są bardzo konserwatywne w rozwoju filogenetycznym. Wykryto je po raz pierwszy u muszki owocowej (*Drosophila melanogaster*). Okazało się jednak, że występują powszechnie u wyższych gatunków, w tym u ssaków. Są to receptory przez błonowe bogate w leucynę, mające w cytoplazmie tzw. domenę TIR wspólną dla receptorów interleukiny-1, a także interleukiny-18. Wykryto dotąd 10 rodzin TLR (TLR1-TLR10), z których pierwszych 9 występuje w wątrobie. Związanie TLR z ligandem uruchamia łańcuch transdukcji sygnału prowadzący do aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, który po wnikięciu do jądra komórkowego powoduje transkrypcję licznych genów, w tym genów dla cytokin prozapalnych jak IL-1, IL-6 i innych. Stymulacja TLR prowadzi także do zwiększonej ekspresji antygenów MHC, przyspieszenia dojrzewania komórek dendrytycznych, a nawet do indukcji apoptozy [29]. Niewiele jak dotąd wiadomo o roli TLR w zapaleniach wirusowych wątroby, także u dzieci. Stwierdzono jednak, że komórki gwiaździste wątroby, mające związek z procesami włóknienia tego narządu są stymulowane przez TLR *via* LPS w przewlekłym zakażeniu HCV [30]. W czasie powstawania marskości wątroby dochodzi do zmian ekspresji TLR-2 i TLR-4 na monocytach krwi obwodowej i na hepatocytach [31,32]. Wykazano także, że indukcja limfocytów TCD8⁺ przez zakażone hepatocyty odbywa się poprzez stymulację TLR-9 [33]. Jest to interesujące, gdyż ligandem dla tego receptora są niemetylowane sekwencje CpG DNA. Sugeruje to pośrednią drogę indukcji limfocytów T, a nie bezpośrednio przez RNA wirusa, dla którego receptorem jest TLR-3.

Przedstawione dane sugerują istotną rolę odporności naturalnej w patogenezie wirusowych zapaleń wątroby, także u dzieci [34]. Rola ta zwykle jest korzystna dla zakażonego ustroju i tym należy tłumaczyć efekty hamujące różne mechanizmy odporności naturalnej przez wirusy. Do najbardziej istotnych składowych ON w przebiegu wirusowych zapaleń wątroby należy zaliczyć: komórki NK,

NKT w zapaleniu typu B, chemokiny IP10 i Mig w obu zapaleniach Bi C, a także szereg cytokin prozapalnych. Jednakże indukcja cytokin immunosupresyjnych przez wirusy odgrywa niewątpliwie rolę niekorzystną. Mało jak dotąd wiadomo o roli receptorów rozpoznających wzory (PRR), a zwłaszcza receptorów Toll-podobnych, ale nawet wstępne dane sugerują, że biorą one udział w kształtowaniu się zapalenia i jego następstw. Bardziej szczegó-

łowe badanie mechanizmów odporności naturalnej w przebiegu wirusowych zapaleń wątroby, zwłaszcza u dzieci, może, jak się wydaje, wnieść nowe wskazówki co do postępowania w tych chorobach.

Praca finansowana w ramach projektu badawczego KBN nr 2905A06927

Piśmiennictwo

1. Medzhitov R, Janeway Jr Ch A. Innate immunity: impact on the adaptive immune response. *Curr Opin Immunol* 1997; 9: 4-9.
2. Mozer-Lisewska I, Kowala-Piaskowska A, Figlerowicz M i wsp. Immunopatogeneza przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu B. *Ped Prakt* 2001; 9: 13-15.
3. Vilches C, Parham P. KIR: diverse, rapidly evolving receptors of innate and adaptive immunity. *Ann Rev Immunol* 2002; 20: 217-251.
4. Tovo PA, Newell ML. Hepatitis C children. *Curr Opin Infect Dis* 1999; 12: 245-250.
5. Vierucci A, De Martino M, Graziani E i wsp. A mechanism for liver injury in viral hepatitis; effects of hepatitis B virus on neutrophil function in vitro and in children with chronic active hepatitis. *Pediatr Res* 1983; 17: 814-820.
6. Sarobe P, Lasarte JJ, Zabaleta A i wsp. Hepatitis C virus structural proteins impair dendritic cell maturation and inhibit in vivo induction of cellular immune responses. *J Virol* 2003; 77: 10862-10871.
7. Beckebaum S, Cicinnati VR, Zhang X i wsp. Hepatitis B virus-induced defect of monocyte-derived dendritic cells leads to impaired T helper type 1 response in vitro: mechanisms for viral immune escape. *Immunology* 2003; 109: 487-495.
8. Arima S, Akbar SM, Michitaka K i wsp. Impaired function of antigen-presenting dendritic cells in patients with chronic hepatitis B: localization of HBV DNA and HBV RNA in blood DC by in situ hybridization. *Int J Mol Med* 2003; 11: 169-174.
9. Bertoletti A, Ferrari C. The differential immune responses during HBV and HCV infection: mechanisms of the diseases and response. *Hepatology* 2003; 38: 1-14.
10. Dolganiuc A, Kodys K, Kopasz A i wsp. Hepatitis C virus core and non-structural Protein 3 proteins induce pro- and anti-inflammatory cytokines and inhibit dendritic cell differentiation. *J Immunol* 2003; 170: 5615-5624.
11. Lee CH, Choi YH, Yang SH i wsp. Hepatitis C virus core protein inhibits interleukin 12 and nitric oxide production from activated macrophages. *Virology* 2001; 279: 271-279.
12. Tseng CT, Klimpel GR. Binding of the hepatitis C virus envelope protein E2 to CD81 inhibits natural killer cell functions. *J Exp Med* 2002; 195: 43-49.
13. Jia H, Du J, Zhu S i wsp. Clinical observation of serum IL-18, IL-10, and sIL-2R levels in patients with chronic hepatitis C pre- and post antiviral treatment. *Chin Med J* 2003; 16: 605-608.
14. Juszczak J. Wirusowe zapalenia wątroby. PZWL, Warszawa 1999: 146.
15. Lee MO, Choi YH, Shin EC i wsp. Hepatitis B virus X protein induced expression of interleukin 18 (IL-18): a potential mechanism for liver injury caused by hepatitis B virus (HBV). *J Hepatol* 2002; 37: 380-386.
16. Ray S, Broor SL, Vaishnav Y i wsp. Transforming growth factor beta in hepatitis C virus infection: in vivo and in vitro findings. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 393-403.
17. Ramadori G, Saile B. The fibrogenic mediators, TGF- β and TNF- α , as surviving factors for activated hepatic stellate cells. w: *Cytokine in Liver Injury and Inflammation*. Falk Symp. 125, wyd. AM Gressner, PC Heinrich, S Matern, Kluwer, Dordrecht 2002: 184-188.
18. Salazar-Mather TP, Hamilton TA, Biron CA. A chemokine-to-cytokine-to-chemokine cascade critical in antiviral defense. *J Clin Invest* 2000; 105: 985-993.
19. Marra F, Efsen E, Bonacchi A, Petrai I. Chemokines in the modulation of liver inflammation. w: *Cytokine in Liver Injury and Inflammation*. Falk Symp. 125, wyd. AM Gressner, PC Heinrich, S Matern, Kluwer, Dordrecht 2002: 163-170.
20. Bonacchi A, Petrai I, Defranco RM i wsp. The chemokine CCL21 modulates lymphocyte recruitment and fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2003; 125: 1060-1076.
21. Shimizu Y, Murata H, Kashii Y i wsp. CC-chemokine receptor 6 and its ligand macrophage inflammatory protein 3 alpha might be involved in the amplification of local necroinflammatory response in the liver. *Hepatology* 2001; 34: 311-319.
22. Arai K, Liu Z-X, Lane T, Denner G. IP-10 and Mig facilitate accumulation of T cells in the virus-infected liver. *Cell Immunol* 2002; 219: 48-56.
23. Mihm S, Schweyer S, Ramadori G. Expression of the chemokine IP-10 correlated with the accumulation of hepatic IFN- γ and IL-18 mRNA in chronic hepatitis C but not in hepatitis B. *J Med Virol* 2003; 70: 562-570.
24. Ferroni P, Mammarell A, Martini F i wsp. Increased soluble P-selectin levels in hepatitis C virus-related chronic hepatitis: correlation with viral load. *J Invest Med* 2001; 49: 407-412.
25. Hu KQ, Yu ChH, Vierling JM. Up-regulation of intercellular adhesion molecule 1 transcription by hepatitis B virus X protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 11441-11445.
26. Abdalla A, Sheesha AA, Shokeir M. i wsp. Serum intercellular adhesion molecule-I in children with chronic liver disease: relationship to disease activity. *Dig. Dis. Sci*; 47: 1206-1208.
27. Heine H, Lien E. Toll-like receptors and their function in innate and adaptive immunity. *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 130: 180-192.
28. Beg AA. Endogenous ligands of Toll-like receptors: implications regulating inflammatory and immune responses. *Trends Immunol* 2002; 23: 509-512.
29. Iredale JP. Regulating hepatic inflammation: pathogen-associated molecular patterns take their toll. *Hepatology* 2003; 37: 979-982.
30. Paik YH, Schwabe RF, Bataller R i wsp. Toll-like receptor 4 mediates inflammatory signaling by bacterial lipopolysaccharide in human hepatic stellate cells. *Hepatology* 2003; 37: 1043-1055.

31. Riordan SM, Skinner N, Nagree A i wsp. Peripheral blood mononuclear cell expression of toll-like receptors and relation to cytokine levels in cirrhosis *Hepatology* 2003; 37: 979-982.
32. Manigold T, Bocker U, Hanck C i wsp. Differential expression of toll-like receptors 2 and 4 in patients with liver cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 275-282.
33. Schwarz K, Storni T, Manolova V i wsp. Role of Toll-like receptors in costimulating cytotoxic T cell responses. *Eur J Immunol* 2003; 33: 1465-1470.
34. Isaguliantz MG, Ozeretskovskaya NN. Host background factors contributing to hepatitis C virus clearance. *Curr Pharm Biotechnol* 2003; 4: 185-193.