

УДК 616.36-002.2:616.988-07-053.2

**ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИНТЕРФЕРОНОВОГО СТАТУСА
У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ В И С****Н.А. Каплина, Е.А. Жукова, С.В. Романова, И.В. Маянская, Н.И. Толкачева, Л.В. Коркоташвили,**
ФГУ «Нижегородский научно-исследовательский институт детской гастроэнтерологии»**Каплина Наталья Анатольевна** – e-mail: kaplinanatali@list.ru

Статья посвящена проблеме хронических вирусных гепатитов В и С, которая имеет огромное медицинское и социальное значение в современном мире. В настоящее время известно, что одним из условий, способствующих формированию хронической вирусной инфекции, признается нарушение в системе интерферона, а именно – снижение его синтеза в лимфоцитах и макрофагах. В связи с этим изучались показатели интерферонов- α и - γ в сыворотке крови у 98 детей с хроническими гепатитами В и С. Выявлены значительные нарушения интерфероногенеза, которые зависели от этиологии, фазы, активности данных заболеваний и изменялись на фоне проводимой комплексной противовирусной терапии. Установлены особенности воздействия двух комбинаций противовирусного лечения с преимущественным и ранним повышением интерферона- α при применении парентерального препарата интерферона и увеличением интерферона- γ при пероральной его форме.

Ключевые слова: хронические вирусные гепатиты В и С, интерферон- α и - γ , противовирусная терапия, дети.

The article under consideration is devoted to the problem of chronic virus hepatitis B and C, which is of great medical and social significance in contemporary world. It has become obvious nowadays that one of the conditions, contributing to formation of chronic virus infection is violation of interferon system, namely decrease of its synthesis in lymphocytes and microphags. Therefore interferon- α and - γ indexes in blood serum were studied in 98 children with chronic hepatitis B and C. Considerable violations of interferonogenesis were recorded which depended on etiology, phase, activity of the diseases and they changed against the background of complex antivirus therapy. Peculiarities of the impact of the 2 combinations of antivirus treatment with prevalent and early increase of interferon- α in children treated with parenteral interferon and increase of interferon- γ - in peroral form were assessed.

Key words: chronic virus hepatitis B and C, interferon- α and - γ , antivirus therapy, children.

Хронические вирусные гепатиты В и С (ХГВ и ХГС) являются одной из важнейших медико-социальных проблем в современном мире, что обусловлено их широким распространением среди взрослого и детского населения, неуклонным ростом заболеваемости, высоким риском трансформации в цирроз печени и гепатоцеллюлярную карциному [1, 2, 3].

Немаловажное значение для развития и течения вирусных гепатитов оказывает система интерферона (IFN), нарушение функционирования которой является важным звеном их патогенеза. В настоящее время установлено, что полноценность ответной реакции организма на инфекцию в большой степени зависит от достаточного синтеза IFN, ограничивающего распространение вируса из инфицированных клеток, сокращающего период репликации и уменьшающего тяжесть течения патологического процесса [4]. Интерфероны могут проявлять свою противовирусную активность в очень низких концентрациях и действуют в клетках путем связывания со специфическими рецепторами и активации внутриклеточных ферментов [5]. Разные клетки экспрессируют на своей поверхности неодинаковое количе-

ство рецепторов, чем, в частности, определяется их чувствительность к действию IFN. Система интерферона неспецифична в двух отношениях: различные индукторы могут стимулировать выработку одного и того же типа IFN, а он, в свою очередь, индуцирует резистентность клетки к широкому кругу вирусов. Показано, что интерферон может быть индуктором собственного синтеза [4, 6].

Недостаточная продукция интерферонов- α и - γ (IFN- α и IFN- γ) в организме при хронической инфекции, вызванной вирусами гепатитов В и С (HBV и HCV), приводит к снижению выраженности противовирусного ответа, обуславливает невозможность распознавания инфицированных клеток цитотоксическими Т-лимфоцитами и определяет недостаточную защищенность интактных гепатоцитов.

На современном этапе достигнуты позитивные результаты в лечении хронических гепатитов В и С с использованием препаратов рекомбинантного IFN- α , который подавляет репликацию гепатотропных вирусов, снижает активность патологического процесса в печени и обладает антифибротическим действием [7, 8]. Однако, учитывая низкую эффективность использования монопрепаратов, комбинированная

терапия является новым стандартом лечения больных ХГВ и ХГС, позволяющая получить синергичную противовирусную активность и уменьшить развитие лекарственной резистентности [9, 10, 11].

Несмотря на то, что в литературе широко представлены данные исследований продукции интерферонов у взрослых пациентов с хроническими вирусными гепатитами В и С [12, 13, 14], оценка их остается неоднозначной. В педиатрии эта проблема освещена недостаточно. Так, отсутствуют работы по сравнительному изучению интерферонового статуса при хронических вирусных гепатитах в зависимости от этиологии заболевания. Кроме того, немногочисленные исследования по воздействию препаратов интерферона, его индукторов на цитокиновое звено иммунологической защиты, в частности интерфероны [15, 16], что определяет необходимость дальнейшего их изучения.

Целью настоящего исследования является выявление особенностей изменения содержания IFN- α и IFN- γ в сыворотке крови у детей с хроническими вирусными гепатитами В и С в зависимости от этиологии, фазы и активности заболеваний, а также на фоне проведения комбинированной противовирусной терапии.

Материалы и методы

Исследования выполнены у 98 больных в возрасте от 4 до 17 лет, из них у 43 человек имел место ХГВ и у 55 пациентов – ХГС. Контрольную группу составили 10 детей 1–2-й групп здоровья.

Диагноз хронического гепатита устанавливали на основании клинических и лабораторно-инструментальных исследований согласно международной классификации, принятой Всемирным конгрессом гастроэнтерологов (Лос-Анджелес, 1994 г.).

Маркеры вирусных гепатитов В и С (HBsAg, анти-HBs, HBeAg, анти-HBe IgG, анти-HBe суммарные, анти-HBc IgM, анти-HCV суммарные) выявляли иммуноферментным анализом с использованием наборов НПО «Диагностические системы» (г. Н. Новгород). Качественное и количественное определение ДНК HBV, РНК HCV в сыворотке крови осуществляли методом полимеразной цепной реакции.

Для оценки функционального состояния печени у всех детей исследовались биохимические показатели по стандартным унифицированным методикам.

Содержание IFN- α , IFN- γ определяли методом иммуноферментного анализа «Протеиновый контур» (г. Санкт-Петербург).

После постановки диагноза 42 детям с хроническими вирусными гепатитами В и С проводили комбинированное лечение препаратами α -интерферона и его индуктора – Циклофероном. Из них 22 пациента (1-я лечебная группа) получали парентеральный α -интерферон – Интрон А (фирма «Шеринг-Плау», Ирландия) с циклофероном и 20 больным (2-я лечебная группа) назначали пероральный препарат α -интерферона – Реаферон-ЕС-липид (фирма ЗАО «Вектор-Медика», г. Новосибирск) с циклофероном. Интрон А использовали в дозе 3 млн ЕД 1 раз в сутки подкожным введением 3 раза в неделю. Реаферон-ЕС-липид применяли по 1–3 млн в зависимости от возраста 2 раза в сутки перорально первые 10 дней, затем указанные дозы назначали через день. Циклоферон вводили внутримышечно, 12,5% раствор по 10 мг/кг массы тела, однократно, через

72 часа. Кроме того, с целью уменьшения выраженности побочного действия парентерального препарата α -интерферона все дети 1-й группы получали Вобэнзим из расчета 1 таблетка на 6 кг массы тела в сутки. Продолжительность лечения составляла при ХГВ 6 месяцев, ХГС – 12 месяцев.

Этическим комитетом ФГУ «ННИИДГ» Минздрава-соцразвития России было разрешено проведение научного исследования по применению препаратов интрона А, Реаферона-ЕС-липид, Циклоферона и Вобэнзима в составе комбинированной терапии у пациентов с хроническим гепатитом В и С с увеличением срока лечения до 6–12 месяцев, в том числе при длительной давности заболеваний, наличии 1b генотипа вируса гепатита С. Отбор больных ХГВ и ХГС на лечение проводился в соответствии со специально разработанными критериями включения и исключения из лечебной группы.

В работе применяли современные методы статистического анализа, интегрированные в программе Statistica 6.0 for Windows XP. Описательная статистика признака включала среднее значение (M), ошибку средней величины (m). Для сравнения показателей между группами использовали критерии Манна-Уитни, Вилкоксона, корреляцию по Спирмену (R). Различия считались достоверными при достигнутом уровне значимости соответствующего статистического критерия $p < 0,05$, как принято в биологии и медицине.

Результаты и их обсуждение

У больных хроническими вирусными гепатитами В и С уровень IFN- α в сыворотке крови $13,8 \pm 0,6$ пг/мл не отличался от нормы – $13,7 \pm 0,3$ пг/мл ($p = 0,88$), что в условиях персистенции патогенного антигена недостаточно для обеспечения вирусологической защиты.

Нами выявлены значительные изменения содержания данного цитокина в зависимости от этиологии, фазы заболеваний и активности воспалительного процесса в печени (таблицы 1–4).

Так, при репликации ХГВ концентрация IFN- α была значительно снижена до $11,6 \pm 0,9$ пг/мл по сравнению с показателем здоровых детей – $13,7 \pm 0,3$ пг/мл ($p = 0,033$), а при интеграции равнялась $13,8 \pm 1,8$ пг/мл и не отличалась от нормы ($p = 0,95$). Напротив, у больных хронической HCV-инфекцией уровень IFN- α сохранялся в пределах такового у здоровых как при наличии, так и при отсутствии РНК HCV, составляя $15,2 \pm 0,9$ пг/мл и $14,0 \pm 2,4$ пг/мл ($p = 0,12$; $p = 0,90$). Необходимо подчеркнуть, что ХГВ в фазу репликации отличался более низким содержанием IFN- α в сыворотке крови в отличие от показателя при реактивации ХГС ($p = 0,001$), что, по-видимому, может иметь важное значение для выбора курса терапии.

При обоих заболеваниях выявлена взаимосвязь между уровнем IFN- α в сыворотке крови и активностью воспалительного процесса в печени. У больных ХГВ при отсутствии цитолиза гепатоцитов концентрация данного цитокина равнялась $12,2 \pm 1,5$ пг/мл и не отличалась от показателя здоровых ($p = 0,33$), а при его наличии была снижена до $11,9 \pm 0,8$ пг/мл ($p = 0,042$). При хроническом вирусном гепатите С сохранялась аналогичная направленность изменений интерферона- α в сыворотке крови. Так, у пациентов с неактивным процессом уровень IFN- α составил $17,1 \pm 1,3$ пг/мл, что превышало норму ($p = 0,015$). Однако при наличии ферментемии он достоверно уменьшался до $12,8 \pm 0,7$ пг/мл

($p=0,028$), но сохранялся в пределах таковых здоровых детей ($p=0,24$). Следует отметить, что при отсутствии цитолиза содержание данного цитокина у больных хронической HBV-инфекцией было достоверно ниже, чем при ХГС ($p=0,017$).

ТАБЛИЦА 1.

Изменения показателей интерферонов сыворотки крови в зависимости от фазы хронического вирусного гепатита В у детей ($M \pm m$)

Показатели (пг/мл)	Здоровые дети	Фазы ХГВ		p		
		репликация	интеграция			
	1	2	3	1-2	1-3	2-3
IFN- α	13,7 $\pm$ 0,3 n=10	11,6 $\pm$ 0,9 n=23	13,8 $\pm$ 1,8 n=7	0,033	0,95	0,091
IFN- γ	132,3 $\pm$ 5,1 n=10	82,8 $\pm$ 7,4 n=23	76,8 $\pm$ 10,1 n=7	0,0001	0,0001	0,97

Примечание: p – степень достоверности различий между группами больных.

ТАБЛИЦА 2.

Изменения показателей интерферонов сыворотки крови в зависимости от фазы хронического вирусного гепатита С у детей ($M \pm m$)

Показатели (пг/мл)	Здоровые дети	Фазы ХГВ		p		
		репликация	интеграция			
	1	2	3	1-2	1-3	2-3
IFN- α	13,7 $\pm$ 0,3 n=10	15,2 $\pm$ 0,9 n=35	14,0 $\pm$ 2,4 n=6	0,12	0,9	0,45
IFN- γ	132,3 $\pm$ 5,1 n=10	93,1 $\pm$ 10,0 n=35	157,5 $\pm$ 29,3 n=6	0,001	0,4	0,018

Примечание: p – степень достоверности различий между группами больных.

ТАБЛИЦА 3.

Изменения показателей интерферонов сыворотки крови в зависимости от активности хронического вирусного гепатита В у детей ($M \pm m$)

Показатели (пг/мл)	Здоровые дети	Активность ХГВ		p		
		неактивный	активный			
	1	2	3	1-2	1-3	2-3
IFN- α	13,7 $\pm$ 0,3 n=10	12,2 $\pm$ 1,5 n=13	11,9 $\pm$ 0,8 n=17	0,33	0,042	0,53
IFN- γ	132,3 $\pm$ 5,1 n=10	82,8 $\pm$ 11,1 n=13	80,6 $\pm$ 7,0 n=17	0,0001	0,0001	0,87

Примечание: p – степень достоверности различий между группами больных.

ТАБЛИЦА 4.

Изменения показателей интерферонов сыворотки крови в зависимости от активности хронического вирусного гепатита С у детей ($M \pm m$)

Показатели (пг/мл)	Здоровые дети	Активность ХГВ		p		
		неактивный	активный			
	1	2	3	1-2	1-3	2-3
IFN- α	13,7 $\pm$ 0,3 n=10	17,1 $\pm$ 1,3 n=21	12,8 $\pm$ 0,7 n=20	0,015	0,24	0,028
IFN- γ	132,3 $\pm$ 5,1 n=10	98,2 $\pm$ 13,7 n=21	100,8 $\pm$ 14,5 n=20	0,025	0,047	0,3

Примечание: p – степень достоверности различий между группами больных.

Следовательно, у детей с ХГВ и ХГС определялись различные изменения интерферона- γ в сыворотке крови. Только при репликативной фазе HBV-инфекции и активности воспалительного процесса в печени отмечено стойкое угнетение его синтеза. При реактивации ХГС, по-видимому, даже относительное повышение содержания IFN- α является недостаточным для оптимального завершения HCV-инфекции.

Следует отметить, что у больных хроническим вирусным гепатитом В и С в отличие от предыдущего цитокина уровень IFN- γ в сыворотке крови был значительно снижен до 91,9 $\pm$ 6,3 пг/мл по сравнению с показателем здоровых детей – 132,3 $\pm$ 5,1 пг/мл ($p=0,0001$). Это свидетельствует о выраженном нарушении его образования при данных заболеваниях.

Обращала внимание зависимость между содержанием IFN- γ и наличием вирусемии только у больных хронической HCV-инфекцией. Так, если при репликации и интеграции ХГВ его уровень в сыворотке крови был отчетливо ниже нормы, составляя 82,8 $\pm$ 7,4 пг/мл и 76,8 $\pm$ 10,1 пг/мл ($p=0,0001$; $p=0,0001$), то у детей с ХГС аналогичное уменьшение до 93,1 $\pm$ 10,0 пг/мл ($p=0,001$) отмечалось лишь при реактивации, а в латентную фазу заболевания концентрация IFN- γ повышалась до 157,5 $\pm$ 29,3 пг/мл ($p=0,40$), приближаясь к норме с достоверной разницей между показателями ($p=0,018$).

Необходимо подчеркнуть, что при отсутствии вирусемии у больных ХГВ содержание IFN- γ было достоверно ниже такового показателя при хроническом вирусном гепатите С ($p=0,024$).

При обоих заболеваниях независимо от наличия активности воспалительного процесса в печени наблюдалось уменьшение данного цитокина относительно нормы (таблицы 3, 4).

Значительный интерес представляет собой изучение динамики содержания эндогенных интерферонов на фоне применения вышеуказанных лечебных схем. С одной стороны, это обусловлено высокой противовирусной активностью интерферонов, которые являются главными цитокинами, защищающими организм от патогенов. С другой стороны, в состав используемых препаратов Интрона А и Реаферона-ЕС-липид входит альфа-2b интерферон человеческого рекомбинантный, а Циклоферон является индуктором эндогенного интерферона.

Влияние комплексной терапии с включением Интрона А с Циклофероном на интерферогенез проявлялось разнонаправленным характером изменений IFN- α и IFN- γ в сыворотке крови больных хроническим вирусным гепатитом. Так, уровень первого из них отчетливо увеличивался уже через месяц лечения с 13,4 $\pm$ 0,9 до 21,9 $\pm$ 2,5 пг/мл ($p=0,0011$). При этом выраженное его повышение сохранялось в сроки наблюдения 3, 6 и 12 месяцев, составляя 26,8 $\pm$ 4,6 пг/мл, 38,7 $\pm$ 4,9 пг/мл и 34,9 $\pm$ 6,3 пг/мл ($p=0,0010$; $p=0,0001$; $p=0,0001$). Подобное нарастание концентрации IFN- α указывало на положительное воздействие используемой терапии с преимущественной активацией Th1-эффекторной системы иммунитета, что способствует элиминации вируса из организма.

Напротив, содержание IFN- γ в конце первого месяца лечения (134,2 $\pm$ 20,9 пг/мл) не отличалось от исходного (124,2 $\pm$ 13,2 пг/мл), а к 3-му и 12-му месяцу терапии оно даже снизилось до 80,2 $\pm$ 7,6 пг/мл и 77,6 $\pm$ 14,5 пг/мл ($p=0,042$; $p=0,004$) соответственно. Нельзя исключить, что это связано с вторичным подавлением синтеза IFN- γ за счет введения извне альфа-интерферона.

Следует отметить, что у больных 1-й группы выявлена сопряженность изменений интерферонов и показателя цитолиза гепатоцитов, о чем свидетельствует наличие корреляций между уровнями IFN- α , IFN- γ и величиной АлАТ ($R = -0,21$, $p = 0,048$; $R = 0,24$, $p = 0,023$).

В группе больных, получающих в лечении реаферон-ЕС-липид и циклоферон, также определялось изменение содержания IFN- α и IFN- γ в сыворотке крови. При этом уровень первого был низким только через 3 месяца лечения – $10,6 \pm 0,5$ пг/мл ($p = 0,0001$), а в остальные сроки наблюдения – 1, 6, 12 месяцев – значение IFN- α находилось в пределах нормы ($p = 0,13$; $p = 0,43$; $p = 0,58$). По окончании терапии он был достоверно выше – $14,6 \pm 1,6$ пг/мл, чем исходный уровень и таковой в 3 месяца ($p = 0,018$; $p = 0,0053$). Следовательно, на фоне данного лечения отмечалась нормализация IFN- α к 6-му месяцу.

Что касается IFN- γ , то его положительные изменения при применении перорального препарата интерферона выявлялись раньше, а именно, к 3-му месяцу терапии его концентрация достоверно увеличивалась до $124,3 \pm 15,1$ пг/мл с $80,2 \pm 11,3$ пг/мл исходного ($p = 0,023$), приближаясь к таковой здоровых детей ($p = 0,62$). Позитивные сдвиги содержания IFN- γ сохранялись и через полгода, что составляло $139,4 \pm 35,5$ пг/мл. Однако по окончании курса противовирусного лечения этот показатель вновь снижался до $83,8 \pm 18,2$ пг/мл и был достоверно меньше нормы ($p = 0,016$). Следует отметить, что низкий уровень IFN- γ через 12 месяцев терапии относительно исходных значений был у детей с сохраняющейся вирусемией, что указывало на неадекватный противовирусный эффект. Напротив, элиминация гепатотропных вирусов сопровождалась повышением содержания IFN- γ у больных, характеризовало высокий эффекторный потенциал Th1-лимфоцитов и способствовало подавлению активной репликации вирусов.

Таким образом, у детей с хроническим вирусным гепатитом В и С комбинированное противовирусное лечение положительно воздействовало на процессы интерферогенеза, о чем свидетельствует увеличение содержания IFN- α и IFN- γ в сыворотке крови. При этом терапия, включающая парентеральный интерферон, в большей степени оказывала позитивное влияние на уровень IFN- α , способствуя быстрому (в течении месяца) и выраженному нарастанию его концентрации в крови, а лечение Реафероном-ЕС-липидом – на IFN- γ . По-видимому, у детей 1-й группы высокое содержание IFN- α обусловлено введением Интрона А, что создает длительную высокую концентрацию лекарственного вещества в крови. Использование пероральных форм α -интерферона в комплексе с циклофероном, возможно, усиливает преимущественно собственный интерферогенез.

Заключение

У детей с хроническими вирусными гепатитами В и С выявлены значительные нарушения в системе интерферогенеза, которые зависели от этиологии, фазы и активно-

сти заболеваний. Установленное снижение продукции интерферонов определяет протективность клеток печени от вирусной агрессии и приводит к длительному течению патологического процесса. При хронической HBV-инфекции отмечалось уменьшение концентрации как IFN- α , так и IFN- γ в сыворотке крови, причем снижение последнего носило стойкий характер. У больных ХГС уровень интерферона- α был в норме независимо от фазы и активности заболевания, что, однако, не отражало адекватность его противовирусного действия. Наличие у больных ХГВ и ХГС уменьшения концентрации интерферонов- α и - γ , наиболее стойкое при хронической HBV-инфекции, указывает на патогенетическую целесообразность использования в лечении препаратов интерферона- α , а также других иммунных лекарственных средств, повышающих его синтез, в частности, из группы индукторов IFN.

МА

ЛИТЕРАТУРА

1. Chang M.H. Hepatitis B virus infection. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2007. Vol. 12. № 3. P. 160-167.
2. The Global Burden Of Hepatitis C Working Group. Global burden of disease (GBD) for hepatitis C. *J. Clin Pharmacol.* 2004. Vol. 44. № 1. P. 20-29.
3. Hepatitis C virus seromarkers and subsequent risk of hepatocellular carcinoma: long-term predictors from a community-based cohort study. Lee M.H. et al. *J Clin Oncol.* 2010. Vol. 28. № 30. P. 4587-4593.
4. Ершов Ф.И. Система интерферона в норме и патологии. М: Медицина, 1996. 240 с.
5. Серебряная Н.Б., Кетлинский С.А. Роль интерферонов 1 типа в регуляции иммунной системы. *Медицинский академический журнал.* 2004. Т. 4. № 2. С. 3-19.
6. Стефани Д.В., Вельтищев Ю.Е. Иммунология и иммунопатология детского возраста: руководство для врачей. М.: Медицина, 1996. 384 с.
7. Рейзис А.Р. Лечение хронического гепатита С у детей и подростков. *Медицинский вестник.* 2006. № 16. С. 11-12.
8. Семенов Т.А. Интерфероны и их роль в лечении ХВГ. *Мир вирусных гепатитов.* 2007. № 1. С. 14-17.
9. Ильченко Л.Ю. Проблемы резистентности терапии хронического гепатита В. *Мир вирусных гепатитов.* 2007. № 2. С. 2-9.
10. Хронический гепатит В: практические рекомендации Американской ассоциации по изучению заболеваний печени. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* 2008. Т. 18. № 1. С. 4-25.
11. Rational pharmacotherapy and correction of immunity disorders in children with chronic hepatitis (clinical review). Goriacheva L.G. et al. *Antibiot Khimioter.* 2010. Vol. 55. № 5-6. P. 50-57.
12. Концентрация естественных аутоантител к интерферону-альфа и показатели интерферонов статуса при хронических гепатитах и циррозе печени. Астахин А.В. и др. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2007. № 4. С. 65-68.
13. Сухина И.А. Характеристика противовирусного иммунитета у больных хроническим вирусным гепатитом С. Дис...канд. биол. наук. Москва. 2003. 166 с.
14. Собчак Д.М., Корочкина О.В., Монакова Э.А. Оценка показателей цитокинного спектра у больных хроническим гепатитом С при лечении препаратами интерферона- α . *Терапевтический архив.* 2005. № 2. С. 70-72.
15. Строкова Т.В. Клинико-лабораторные проявления хронических вирусных гепатитов у детей в условиях комплексной терапии. Автореф. дис...докт. мед. наук. Москва. 2006. 45 с.
16. Погодина О.В. Клинико-иммунологическая характеристика хронических гепатитов В и С и оценка эффективности их лечения у детей. Автореф. дис...канд. мед. наук. Челябинск. 2007. 21 с.