

УДК 616.36-002:616.988-097-039

ОЦЕНКА РЕПЛИКАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ HBV И HCV И ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУННОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ СОЧЕТАННОЙ HBV/HCV-ИНФЕКЦИЕЙ ПРИ РАЗНОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ БОЛЕЗНИ

О.Л. Соболевская, О.В. Корочкина, ГОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия»

Соболевская Оксана Львовна – e-mail: vad5584@yandex.ru

Проведено изучение репликативной активности вирусов гепатита В и С и содержания цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ФНО- α , ИНФ- α , ИНФ- γ в сыворотке крови больных хронической сочетанной HBV/HCV-инфекцией на разных сроках болезни. В ранние сроки болезни наблюдалось выраженное повышение изучаемых цитокинов. Снижение репликативной активности HBV и HCV после 3–4 лет болезни сопровождалось снижением уровня ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α и тенденцией к повышению содержания ИЛ-2, ИНФ- α , ИНФ- γ . На поздних сроках инфекционного процесса (свыше 15 лет) отмечалось повышение содержания всех изучаемых цитокинов, что, в основном, связано с выраженными нарушениями в иммунной системе при длительном течении хронического процесса. Соответственно, наиболее целесообразно назначение противовирусной терапии при хронической сочетанной HBV/HCV-инфекции в ранние сроки болезни.

Ключевые слова: хроническая сочетанная HBV/HCV-инфекция, репликация вирусов, цитокины.

The authors studied the activity of viral replication and the cytokine status (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, TNF- α , IFN- α , INF- γ) in patients with chronic combination HBV/HCV-infection, depending on the duration of infection. The significant increase of all cytokines was observed at early terms of disease. A decrease of replication of HBV and HCV after 3–4 years of disease was accompanied by a decrease of level of IL-1 β , IL-6, TNF- α and direction to an increase of level of IL-2, IFN- α , INF- γ . The levels of all cytokines were elevated at late terms of disease (over 15 years), connecting mainly with significant changes of immune system. The use of antiviral therapy of chronic combination HBV/HCV-infection is expediently at early terms of disease.

Key words: chronic combination HBV/HCV-infection, viral replication, cytokines.

Парентеральные вирусные гепатиты В и С в настоящее время являются одной из основных проблем инфектологии и главными причинами развития хронических поражений печени. В связи с ростом инъекционной наркомании увеличилось количество смешанных форм гепатитов, особенно сочетание гепатита В и С [1, 2]. Известно, что хроническая сочетанная HBV/HCV-инфекция чаще, чем хронические моногепатиты В и С, приводит к развитию цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы [3, 4]. По мнению многочисленных исследователей, основную роль в развитии как острой, так и хронической фазы гепатитов В и С, играет Т-клеточный иммунный ответ [5, 6, 7, 8]. По-видимому, формирование хронических форм может быть связано со сниженной чувствительностью вирусов и клеток организма хозяина к действию цитокинов и/или недостаточной продукцией последних. Кроме этого, способствовать персистенции вирусов может подавление вирусами HBV и HCV процессинга и презентации антигенов, а также подавление выработки интерферона, стимуляция вирусами апоптоза иммунокомпетентных клеток [8, 9]. Особое значение имеет баланс между провоспалительными и противовоспалитель-

ными цитокинами, ведущий к формированию Th-1 или Th-2 типу иммунного ответа.

Целью настоящей работы явилось изучение изменения репликативной активности вирусов HBV и HCV и спектра цитокинов у больных хронической сочетанной HBV/HCV-инфекцией при разной продолжительности болезни.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 124 больных (72 мужчины, 52 женщины) хронической сочетанной HBV/HCV-инфекцией. Все больные были разделены на 4 группы в зависимости от репликативной активности вирусов (таблица 1). Возраст больных колебался от 19 до 67 лет. Наблюдение за больными проводилось в течение 2–7 лет.

Диагноз был установлен с учетом общепринятых эпидемиологических и клинико-биохимических данных, верифицирован обнаружением маркеров ХГВ (HBsAg, HBeAg/antiHBe, antiHBe, antiHBeIgM, antiHBeIgG) и ХГС (antiHCV, antiHCVcore IgM, antiHCVcore IgG, antiHCV NS3, NS4, NS5) иммуноферментным методом, а также обнаружением HBV ДНК и HCV РНК в сыворотке крови методом ПЦР. Медиаторы иммунного ответа определялись иммуноферментным методом с

использованием тест-систем производства «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург). В целях уточнения пределов нормальных колебаний значений всех изучавшихся показателей медиаторов (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ФНО- α , ИНФ- α , ИНФ- γ) были проведены исследования у 60 здоровых доноров, мужчин и женщин в возрасте от 20 до 50 лет.

ТАБЛИЦА 1.
Характеристика групп больных хронической сочетанной HBV/HCV-инфекцией

Группы больных	ИЛ-1 β	ИЛ-2	ИЛ-4	ИЛ-6	ФНО- α	ИНФ- α	ИНФ- γ
1	381,4 \pm 33,7 p=0,002	83,9 \pm 9,4 p=0,062	148,2 \pm 12,1 p=0,015	80,7 \pm 6,8 p=0,068	112,8 \pm 10,5 p=0,037	95,2 \pm 7,2 p=0,047	312,7 \pm 24,6 p=0,005
2	471,5 \pm 33,2 p=0,001	144,7 \pm 11,6 p=0,023	71,3 \pm 7,5 p=0,123	126,3 \pm 11,7 p=0,027	176,3 \pm 12,4 p=0,002	120,4 \pm 10,8 p=0,036	431,5 \pm 36,7 p=0,002
3	380,5 \pm 33,2 p=0,002	78,4 \pm 8,1 p=0,084	138,2 \pm 11,4 p=0,018	75,8 \pm 7,2 p=0,078	110,7 \pm 10,2 p=0,032	87,5 \pm 6,4 p=0,058	315,4 \pm 24,8 p=0,005
4	379,2 \pm 31,2 p=0,002	84,7 \pm 9,6 p=0,065	134,7 \pm 11,2 p=0,016	81,2 \pm 7,1 p=0,073	118,4 \pm 10,7 p=0,026	89,7 \pm 5,8 p=0,052	323,5 \pm 25,4 p=0,006
нормал. показатели	153,4 \pm 10,4	56,3 \pm 4,2	53,2 \pm 4,1	58,4 \pm 4,3	44,3 \pm 3,1	48,3 \pm 3,2	156,4 \pm 10,6

ТАБЛИЦА 2.
Средние значения цитокинов у больных хронической сочетанной HBV/HCV-инфекцией по данным первичного обследования сравнительно со здоровыми (Пг/мл)

№ группы	Характеристика групп	Количество больных
1	ХГВ с высокой репликативной активностью + ХГС с высокой репликацией	15
2	ХГВ с низкой репликативной активностью + ХГС с низкой репликацией	58
3	ХГВ с низкой репликативной активностью + ХГС с высокой репликацией	32
4	ХГВ с высокой репликативной активностью + ХГС с низкой репликацией	19

Результаты исследования

При первичном обследовании у всех больных хронической сочетанной HBV/HCV-инфекцией отмечено более высокое содержание всех изучаемых цитокинов сравнительно со здоровыми, что характеризует иммунную реакцию на наличие HBV и HCV (таблица 2). В результате динамического наблюдения было выявлено, что у больных 1-й и 4-й групп (при наличии высокой репликативной активности HBV в структуре сочетанной хронической инфекции) снижение активности репликации HBV отмечалось через 3–9 лет (рис.). Ретроспективный анализ показал, что в 1-й и 4-й группах у 11,4% больных и во 2-й и 3-й группах больных в 12% зарегистрирована спонтанная сероконверсия HBsAg-антиHBs через 8–10 лет от момента предположительной хронизации процесса. С другой стороны, у 1/3 больных 1-й и 4-й групп и у 10% больных 2-й и 3-й групп при продолжительности болезни более 15 лет наблюдалась реактивация процесса.

У больных 1-й и 3-й групп (при наличии высокой репликации HCV) наблюдалось исчезновение РНК вируса из крови через 4–8 лет хронического процесса, как и при ХГВ (рис.). При динамическом наблюдении выявлено, что с увеличением продолжительности болезни возрастала частота регистрации HCV РНК (в среднем после 10 лет), в том числе и у больных 2-й и 4-й групп, у которых при первичном обследо-

вании РНК вируса не была обнаружена. Т. е., как показано на рисунке, максимальная частота регистрации HCV РНК наблюдается у больных с длительностью болезни свыше 10 лет.

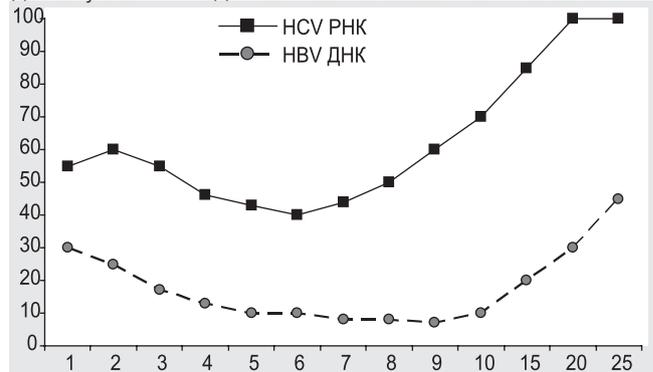


РИС.
Динамика частоты индикации HBV ДНК и HCV РНК при увеличении продолжительности хронической сочетанной HBV/HCV-инфекцией.
Примечания: Ось X - продолжительность болезни, годы, Ось Y - %.

Динамические особенности активности репликации HBV и HCV нашли свое подтверждение при изучении показателей иммунного ответа при разной продолжительности болезни. Проведенный анализ показал наиболее выраженные изменения в содержании ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α . Так, у больных 1-й и 3-й групп (при наличии высокой репликации HCV) отмечены однонаправленные динамические изменения на протяжении более 15 лет наблюдения. У них зарегистрировано значительное снижение уровней показателей данных цитокинов через 5–15 лет (1-я группа – 353,4 \pm 21,6 Пг/мл и 215,4 \pm 19,6 Пг/мл, p=0,01; 141,2 \pm 11,2 Пг/мл и 84,9 \pm 7,5 Пг/мл, p=0,01; 172,4 \pm 13,5 Пг/мл и 98,8 \pm 9,6 Пг/мл, p=0,02; 3-я группа – 358,2 \pm 24,3 Пг/мл и 221,7 \pm 18,3 Пг/мл, p=0,01; 136,8 \pm 10,5 Пг/мл и 86,7 \pm 8,1 Пг/мл, p=0,02; 164,8 \pm 13,8 Пг/мл и 90,2 \pm 7,6 Пг/мл, p=0,01). Дальнейшее наблюдение показало значительное нарастание содержания ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α в обеих группах больных, даже у тех больных, у которых наблюдалась спонтанная элиминация HBV (1-я группа – 461,7 \pm 37,2 Пг/мл, p=0,001; 221,3 \pm 21,5 Пг/мл, p=0,002; 249,4 \pm 24,7, p=0,001; 3-я группа – 452,8 \pm 36,4 Пг/мл, p=0,001; 215,6 \pm 20,3 Пг/мл, p=0,003; 258,6 \pm 24,5 Пг/мл, p=0,001).

Динамика показателей ИЛ-2, ИЛ-4, ИНФ- α и ИНФ- γ в 1-й и 3-й группах была менее выраженной, имела тенденцию к повышению через 5–15 лет (p>0,05, таблицы 3, 4). При продолжительности болезни свыше 15 лет отмечалось дальнейшее нарастание уровней этих цитокинов. Однако изменения были недостоверными (p>0,05).

Аналогичные данные отмечены у больных с сочетанием ХГВ с высокой репликацией и ХГС с низкой репликацией (4-я группа). Достоверное снижение содержания ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α наблюдалось через 4–10 лет (349,4 \pm 20,7 Пг/мл и 223,6 \pm 19,5 Пг/мл, p=0,01; 137,5 \pm 10,6 Пг/мл и 85,7 \pm 7,3 Пг/мл, p=0,01; 169,4 \pm 13,2 Пг/мл и 100,3 \pm 9,5 Пг/мл, p=0,02). С другой стороны, при продолжительности болезни свыше 15 лет отмечено значительное нарастание уровней данных цитокинов (456,2 \pm 35,7 Пг/мл, p=0,002; 228,3 \pm 22,3 Пг/мл p=0,002; 254,3 \pm 23,6, p=0,001). Анализ содержания ИЛ-2, ИЛ-4, ИНФ- α и ИНФ- γ через 5–15 лет и в более поздние сроки болезни показал повышение их значений (таблица 5). Однако эти изменения были недостоверными (p>0,05).

ТАБЛИЦА 3.

Динамические изменения цитокинов ИЛ-2, ИЛ-4, ИНФ- α , ИНФ- γ у больных 1-й группы при разной продолжительности болезни (средние значения, Пг/мл)

цитокины	Продолжительность болезни		
	1-4 года	5-15 лет	свыше 15 лет
ИЛ-2	128,5 \pm 11,2	149,7 \pm 13,1 p=0,28	152,6 \pm 13,2 p=0,13
ИЛ-4	105,4 \pm 7,6	128,8 \pm 9,8 p=0,31	162,4 \pm 14,7 p=0,082
ИНФ- α	102,6 \pm 9,2	129,7 \pm 10,6 p=0,32	165,8 \pm 15,4 p=0,065
ИНФ- γ	424,8 \pm 37,5	501,2 \pm 34,3 p=0,061	531,7 \pm 44,1 p=0,15

ТАБЛИЦА 4.

Динамические изменения цитокинов ИЛ-2, ИЛ-4, ИНФ- α , ИНФ- γ у больных 3-й группы при разной продолжительности болезни (средние значения, Пг/мл)

цитокины	Продолжительность болезни		
	1-4 года	5-15 лет	свыше 15 лет
ИЛ-2	132,5 \pm 11,8	154,7 \pm 13,4 p=0,31	158,5 \pm 13,4 p=0,18
ИЛ-4	100,4 \pm 6,8	125,5 \pm 8,7 p=0,21	165,2 \pm 13,8 p=0,23
ИНФ- α	107,3 \pm 10,5	123,7 \pm 11,2 p=0,38	160,8 \pm 15,2 p=0,28
ИНФ- γ	415,7 \pm 35,8	498,2 \pm 32,6 p=0,082	527,5 \pm 42,6 p=0,32

ТАБЛИЦА 5.

Динамические изменения цитокинов ИЛ-2, ИЛ-4, ИНФ- α , ИНФ- γ у больных 4-й группы при разной продолжительности болезни (средние значения, Пг/мл)

цитокины	Продолжительность болезни		
	1-4 года	5-15 лет	свыше 15 лет
ИЛ-2	121,4 \pm 9,2	142,7 \pm 12,1 p=0,32	149,7 \pm 12,4 p=0,15
ИЛ-4	103,5 \pm 7,3	132,8 \pm 10,3 p=0,25	169,4 \pm 15,2 p=0,078
ИНФ- α	109,4 \pm 9,8	128,5 \pm 11,2 p=0,35	158,7 \pm 14,6 p=0,067
ИНФ- γ	418,6 \pm 36,5	419,2 \pm 32,4 p=0,061	534,8 \pm 44,6 p=0,21

Динамике цитокинов у больных 1-й, 3-й и 4-й групп соответствовали изменения медиаторов иммунного ответа у больных сочетанной инфекцией с низкой репликацией обоих вирусов (2-я группа). В отличие от больных 1-й группы, во 2-й группе в течение первых 4–10 лет болезни зарегистрированы более высокие уровни провоспалительных (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО- α , ИНФ- α и ИНФ- γ) цитокинов (442,5 \pm 28,2 Пг/мл p=0,028; 161,4 \pm 11,6 Пг/мл p=0,047; 168,2 \pm 12,8 Пг/мл p=0,246; 182,5 \pm 12,7 Пг/мл p=0,523; 126,4 \pm 11,6 Пг/мл p=0,323; 439,5 \pm 38,2 Пг/мл p=0,568). Вместе с тем, через 5–15 лет выявлено снижение уровня ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α (264,7 \pm 20,3 Пг/мл p=0,005; 92,8 \pm 10,2 Пг/мл p=0,01; 101,4 \pm 10,3 Пг/мл p=0,02) и тенденция к увеличению ИЛ-2, ИЛ-4, ИНФ- α и ИНФ- γ (172,3 \pm 12,8 Пг/мл p=0,613; 97,6 \pm 7,5 Пг/мл и 130,5 \pm 10,2 Пг/мл p=0,425; 137,8 \pm 12,2 Пг/мл p=0,436; 512,4 \pm 33,7 Пг/мл p=0,082). Длительное наблюдение (свыше 15 лет) показало нарастание содержания всех изучаемых цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ФНО- α , ИНФ- α и ИНФ- γ (483,6 \pm 38,1 Пг/мл p=0,001; 182,4 \pm 13,2 Пг/мл p=0,526; 158,2 \pm 13,7 Пг/мл p=0,065; 218,3 \pm 20,4 Пг/мл p=0,002; 252,4 \pm 22,3 Пг/мл p=0,001; 168,6 \pm 16,1 Пг/мл p=0,072; 539,4 \pm 42,4 Пг/мл p=0,235).

Обсуждение

Известно, что повышение содержания цитокинов в ранние сроки болезни отражает характер иммунного ответа организма на вирусы [1, 6, 7]. Соответственно, в эти сроки отме-

чается и максимальный ответ на противовирусную терапию. Дальнейшая динамика содержания цитокинов отражала снижение активности репликации обоих вирусов, так как даже в группе больных с высокой репликативной активностью обоих вирусов исчезновение HBV ДНК и HCV РНК из крови или, реже, снижение их концентрации происходило примерно в одни и те же сроки – после 3–4 лет болезни. Этот процесс сопровождался снижением уровня ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α . С другой стороны, тенденция к повышению содержания ИЛ-2, ИНФ- α и ИНФ- γ в этот период может соответствовать повышению активности Th-1 эффекторного механизма иммунитета. Снижение частоты регистрации HCV РНК на 4–8-м году течения инфекционного процесса можно расценивать как проявление латентного процесса ХГС в структуре сочетанной инфекции («мнимое благополучие»), после чего наблюдается нарастание активности репликации HCV. У небольшой части больных этот период завершился спонтанной сероконверсией HBsAg-антиHBs. Вероятно, сыграло определенную роль и подавляющее действие HCV на репликацию HBV, что согласуется с результатами более ранних наших исследований и литературными данными о преимущественном подавлении репликации HBV вирусом HCV [3, 10]. Динамика цитокинов у этих больных в дальнейшем определялась активностью HCV-процесса.

При более длительном течении болезни (больше 15 лет) наблюдалось нарастание содержания всех изучаемых медиаторов иммунного ответа, в том числе и у тех больных, у которых не отмечено реактивации HBV-инфекции. Этот процесс характеризовал развитие фазы реактивации ХГС у всех больных и реактивацию ХГВ почти у половины больных. В согласии с литературными данными, можно сказать, что эти изменения в цитокиновом спектре связаны с активацией мезенхимально-воспалительного синдрома, повышением содержания в крови аутоантител, циркулирующих иммунных комплексов, нарушением инактивации и своевременного выведения медиаторов из организма, разрушением рецепторов аппарата Th-лимфоцитов [8, 9].

Заключение

Таким образом, высокая репликативная активность HBV и HCV при хроническом процессе наблюдается в ранние сроки болезни и на значительно более поздних стадиях, особенно активность HCV. Это сопровождается повышением уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов к поздним срокам болезни, что связано с разнообразными нарушениями в иммунной системе в результате длительного течения хронического процесса. С учетом динамических изменений репликативной активности вирусов и цитокинового спектра наиболее целесообразно назначение противовирусной терапии при хронической сочетанной HBV/HCV-инфекции в ранние сроки болезни.



ЛИТЕРАТУРА

- Иванова М.Р., Чуланов В.П., Жемухова Р.Х. Клинико-эпидемиологическая характеристика и показатели апоптоза у больных хроническими вирусными гепатитами. Инфекционные болезни. 2009. № 7 (3). С. 5-7.
- Матрос О.И. Клинико-эпидемиологическая характеристика микст-гепатитов в сравнении с моно-гепатитами А, В и С в Алтайском крае. Автореф. дис. на соиск. уч. ст. канд. мед. наук. Новосибирск. 2006.
- Горбаков В.В., Хазанов А.И., Блохина Н.П. и др. Естественное течение сочетанных вирусных гепатитов В и С. Болезни и возбудители. 2007. № 3. С. 237-246.

4. Серов В.В., Апросина З.Г., Игнатов Т.М. Хронический вирусный гепатит. Вестник РАМН. 2003. № 4. С. 34-38.
5. Конусова В.Г., Романова Е.С., Чурилова И.В. и др. Изменение показателей оксидантного и цитокинового статуса больных хроническим гепатитом С и В при лечении препаратом рекомбинантного интерлейкина 1 β человека. Цитокины и воспаление. 2003. № 2 (1). С. 20-28.
6. Наследникова И.О., Рязанцева Н.В., Белобородова Е.В. и др. Дизрегуляция клеточного звена иммунитета при хроническом вирусном гепатите. Бюллетень СО РАМН. 2005. № 4 (118). С. 59-63.
7. Ganem D., Prince A.M. Hepatitis B virus infection – natural history and clinical consequences. N Engl J Med. 2004. № 350. P. 1118-1129.
8. Нагоев Б.С., Абидов М.Т., Понежева Ж.Б. Хронические вирусные гепатиты: иммуно-патогенетические, клинико-диагностические и терапевтические аспекты. Майкоп:ГУРИПП «Адыгея», 2005. С. 300.
9. Робсон А., Ройт А., Делвз П. Основы медицинской иммунологии. М.: Изд-во «Мир», 2006. С. 920.
10. Соболевская О.Л. Микст-гепатит В+С остро и хронического течения. Некоторые эпидемиологические особенности и клинико-иммунологическая характеристика. Автореф. дис. на соиск. уч. ст. канд. мед. наук. Н. Новгород. 2000.