

УДК 576.3.616.9

**ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА В СОПОСТАВЛЕНИИ
С ИСХОДАМИ ОСТРОЙ СОЧЕТАННОЙ HBV/HCV-ИНФЕКЦИИ****О.А. Соболевская,**

ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия»

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

Проведено исследование цитокинового статуса у больных острой сочетанной HBV/HCV-инфекцией с разными исходами болезни (выздоровление и хронизация). Обследованы 78 больных в возрасте от 18 до 46 лет. Полученные данные показали значительное повышение уровня ИЛ-2 и ИФН-γ (3 нормы и более) при первичном обследовании (первые 2–3 недели болезни) и снижение их уровня до нормального через 1 месяц у больных с благоприятным исходом острого гепатита В (ОГВ) и острого гепатита С (ОГС). С другой стороны, достоверное повышение уровня ИЛ-4 и ФНО-α (3 нормы и более) и сохранение этих повышенных показателей в течение следующих 5 месяцев наблюдалось у пациентов с последующей хронизацией гепатита В и/или гепатита С.

Ключевые слова: острая сочетанная HBV/HCV-инфекция, цитокины, исход болезни.

The authors studied the cytokine status in patients with acute combined HBV/HCV-infection with different outcomes of disease (recovery or formation of chronic form). The examination embraced 78 patients aged from 18 to 46 years. The obtained data showed that high level of IL-2 and INF-γ (3 norm and more) in initial examination (the first 2–3 weeks of disease) and their decreasing to normal level in 1 month are observed in patients with recovery of acute hepatitis B and acute hepatitis C. On the other hand, reliably increase of level of IL-4 and TNF-α (3 norm and more) in initial examination and preservation of these increased indices in next 5 months are observed in patients with following formation of chronic form of hepatitis B and/or C.

Key words: acute combined HBV/HCV-infection, cytokines, outcome of disease.

Среди различных сочетаний вирусов гепатитов на первое место выходит микст-гепатит В+С. Сочетание этих вирусов в острую фазу может утяжелять течение болезни, повышать риск развития холестатических форм и присоединения аутоиммунного компонента [1, 2, 3]. При развитии хронического микст-гепатита В+С повышается риск развития цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы [3, 4, 5]. Известно, что при взаимодействии вируса гепатита В (HBV) и вируса гепатита С (HCV) с иммунной системой, наряду с реакциями вирусспецифических антител, важным является участие цитокинов в формировании типа Т-лимфоцитарного ответа [6, 7, 8, 9]. Таким образом, одним из наиболее важных процессов в формировании хронических вирусных гепатитов В (ХГВ) и С (ХГС) является недостаточная продукция цитокинов и/или снижение чувствительности к ним вирусов и клеток организма. С другой стороны, имеет значение и дисбаланс между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами [7, 8, 9].

Целью работы явилась оценка цитокинового спектра у больных острой сочетанной HBV/HCV-инфекцией с разными исходами болезни.

Материалы и методы

Под наблюдением (в течение 6 месяцев) находились 78 больных с острой сочетанной HBV/HCV-инфекцией, 48 мужчин (61,5%) и 30 женщин (38,5%) в возрасте от 18 до 46 лет. Диагноз устанавливался с учетом клинико-эпидемиологических данных, верифицирован обнаружением серологических маркеров HBV (antiHBcore IgM, HBeAg/antiHBe, antiHBcore сумм), HCV (antiHCVcore IgM и IgG, antiHCV NS3, antiHCV NS4, antiHCV NS5) и обнаружением ДНК HBV и РНК HCV методом полимеразной цепной реак-

ции (ПЦР). Уровень цитокинов (интерлейкины: ИЛ-1β, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, фактор некроза опухоли-α (ФНО-α), интерфероны: ИНФ-α, ИНФ-γ) определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем производства «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург). В соответствии с требованиями вариационной статистики вычисляли среднюю арифметическую (М), среднюю ошибку арифметической (m). С целью выяснения взаимосвязи изменений разных показателей был использован критерий студента (t). Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Ретроспективно проанализировано содержание медиаторов при первичном обследовании у больных, у которых через месяц от начала болезни зарегистрировано исчезновение или сохранение HBV ДНК и через 3 месяца от начала болезни – исчезновение или сохранение HCV РНК. В более ранних наших работах было показано, что именно в эти сроки наблюдения за ДНК и РНК вирусов мы можем прогнозировать угрозу хронизации [10, 11]. Как показано на рисунке 1 и в таблице 1, достоверно высокие показатели провоспалительных цитокинов ИЛ-2, ИЛ-6 и ИНФ-γ при первичном обследовании наблюдались у HBV ДНК-негативных (через 1 месяц) и HCV РНК-негативных (через 3 месяца) больных сравнительно с пациентами с высокой HBV- и HCV-репликативной активностью. Эти данные касались как частоты регистрации, так и средних значений (рис. 1, табл. 1). Кроме этого, при сохранении в крови HBV ДНК и/или HCV РНК несколько чаще регистрировались повышенные уровни ИЛ-4. В данной группе больных уровни ИЛ-2, ИЛ-6 и ИНФ-γ были сниженными по данным первичного обследования.

Весьма интересным, на наш взгляд, было сопоставление показателей клеточного иммунного ответа и результатов индикации HBeAg через месяц от начала болезни, так как уже в эти сроки болезни по результатам обнаружения данного показателя репликативной активности вируса HBV можно судить о развитии прогрессивного течения с высоким риском хронизации гепатита В в структуре сочетанной инфекции. Анализ был проведен у 20 больных, у которых в эти сроки наблюдения уже отсутствовали признаки активной репликации HCV (РНК, а/HCVcore IgM). У HBeAg-негативных больных отмечено значительное повышение ИЛ-2, ИЛ-6 и ИНФ-γ при первичном обследовании сравнительно с больными с HBeAg-емией (таблица 1, рис. 1). С другой стороны, при длительном определении в крови HBeAg чаще регистрировались повышенные уровни ИЛ-4 (рис. 1). Таким образом, у больных с быстрым исчезновением маркеров активной репликации HCV (РНК) и HBV (ДНК, HBeAg) высокое содержание провоспалительных цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-6, ИНФ-γ) и низкие уровни ИЛ-4 подтверждали более сильный иммунный ответ и выраженную активность Th-1-лимфоцитов в этой группе больных, что способствовало элиминации вирусов.

Закономерность отмеченных различий подтверждалась результатами динамической оценки содержания медиаторов иммунного ответа у больных HBV/HCV-инфекцией в сопоставлении с исходами острой фазы. В зависимости от исходов острого гепатита В (ОГВ) и острого гепатита С (ОГС) в структуре сочетанной инфекции все больные были разделены на 2 группы. 1-ю группу составили больные с благоприятным исходом ОГВ и ОГС (25 больных). Во 2-ю группу вошли больные с последующей хронизацией гепатита В и/или гепатита С (53 пациента): у 50 больных (66,7 %) зарегистрировано формирование ХГС и у 5 пациентов (6,4%) – ХГВ в структуре сочетанной HBV/HCV-инфекции (у 2 из них наблюдалась одновременно хронизация гепатита В и С).

При оценке содержания цитокинов по данным первичного обследования в 1-й группе у всех больных отмечено более существенное увеличение провоспалительных цитокинов ИЛ-2 и ИНФ-γ, продукция которых повышается при активизации Th-1-лимфоцитов, сравнительно с больными, у которых наблюдалась хронизация HBV- и HCV-инфекций или формирование хотя бы одного из гепатитов (таблица 2). Так, высокий уровень данных показателей (3 нормы и больше) наблюдался у 23 из 25 больных с последующим выздоровлением (92%). У больных 2-й группы такой уровень ИЛ-2 и ИНФ-γ отсутствовал у преимущественного большинства – 83% (44 из 53 больных). То есть, шанс хронизации в 1-й группе больных в 4,8 раза меньше, чем у больных с меньшим уровнем данных цитокинов (менее 3 норм). В течение 2 месяца наблюдения содержание ИЛ-2 и ИНФ-γ, превышающих нормальный уровень, сохранялось у 88,6% (47 из 53) больных с последующей хронизацией HBV и/или HCV. Шанс хронизации при данных показателях цитокинов в 5,3 раза выше, чем при нормальных или близких к нормальным показателях. Из группы больных с последующим выздоровлением лишь у 4 из 25 (16%, $p=0,001$) сохранялись повышенные показатели данных цитокинов до начала 3 месяца наблюдения.

С другой стороны, в эти же сроки наблюдения во 2-й группе больных достоверно выше были средние значения ИЛ-4 и ФНО-α, характеризующие активизацию Th-2 механизмов клеточного иммунитета и более выраженные морфологические изменения в печени, по сравнению с показателями данных цитокинов в 1-й группе больных (табл. 2). Так, при первичном обследовании значительное повышение уровня ИЛ-4 и ФНО-α (3 нормы и более) зарегистрировано у 84,9% больных (45 из 53) 2-й группы. Шанс хронизации для этих больных в 4,2 раза выше, чем для больных с более низкими показателями ИЛ-4 и ФНО-α. В группе больных с последующим выздоровлением лишь у 1 пациента отмечалось

ТАБЛИЦА 1.

Средние значения цитокинов у больных острой сочетанной HBV/HCV-инфекцией при разных результатах индикации HCV РНК, HBV ДНК, HBeAg (первичное обследование, Пг/мл)

Показатели	Кол-во больных	ИЛ-1	ИЛ-2	ИЛ-4	ИЛ-6	ФНО-α	ИНФ-α	ИНФ-γ
Отсутствие HCV РНК через 3 мес., отсутствие HBV ДНК через 1 месяц	27	281,4±20,1	151,4±12,1	117,3±10,4	153,8±13,3	134,7±12,6	132,1±11,2	465,2±36,3
Наличие HCV РНК через 3 мес., отсутствие HBV ДНК через 1 месяц	46	242,3±19,4 $p=0,413$	97,5±8,1 $p=0,036$	137,9±11,5 $p=0,174$	95,6±7,6 $p=0,032$	106,5±8,2 $p=0,213$	108,3±8,2 $p=0,305$	311,7±25,1 $p=0,024$
Отсутствие HCV РНК через 3 мес., наличие HBV ДНК через 1 месяц	5	245,7±19,8 $p=0,421$	92,8±7,6 $p=0,032$	140,6±12,3 $p=0,115$	93,4±7,2 $p=0,034$	107,9±7,4 $p=0,246$	105,7±7,2 $p=0,275$	304,8±24,2 $p=0,018$
Отсутствие HBeAg через 1 месяц	14	289,5±24,1	144,7±11,4	116,5±9,1	154,2±13,4	123,7±11,2	120,8±9,6	397,8±27,2
Наличие HBeAg через 1 месяц	6	258,3±19,4 $p=0,382$	101,2±8,4 $p=0,046$	138,8±10,3 $p=0,134$	101,5±8,6 $p=0,041$	109,4±8,3 $p=0,315$	94,6±6,2 $p=0,182$	284,7±21,3 $p=0,038$
Нормальные показатели	60	153,4±10,4	56,3±4,2	53,2±4,1	58,4±4,3	44,3±3,1	48,3±3,2	156,4±10,6

ТАБЛИЦА 2.

Средние значения цитокинов у больных острой сочетанной HBV/HCV-инфекцией в сопоставлении с исходами гепатита С и гепатита В (первичное обследование, Пг/мл)

Характеристика больных	Кол-во больных	ИЛ-1	ИЛ-2	ИЛ-4	ИЛ-6	ФНО-α	ИНФ-α	ИНФ-γ
ОГС – выздоровление ОГВ – выздоровление	25	314,5±23,1	172,5±15,1	107,4±9,8	140,9±11,2	109,7±8,6	131,4±10,2	481,4±37,6
Хронизация ОГС и/или ОГВ в структуре сочетанной инфекции	53	307,8±22,4 $p=0,412$	112,4±10,1 $p=0,044$	169,5±14,7 $p=0,041$	134,6±11,4 $p=0,406$	171,3±15,2 $p=0,038$	117,9±9,5 $p=0,115$	312,4±28,1 $p=0,027$
Здоровые доноры	60	153,4±10,4	56,3±4,2	53,2±4,1	58,4±4,3	44,3±3,1	48,3±3,2	156,4±10,6

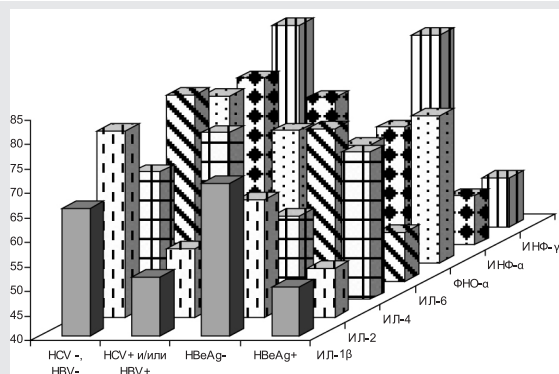


РИС. 1.
Частота повышения цитокинов (более 2 норм) при разных результатах индикации HCV РНК, HBV ДНК, HBeAg (первичное обследование, %). Ось Y – проценты (%).

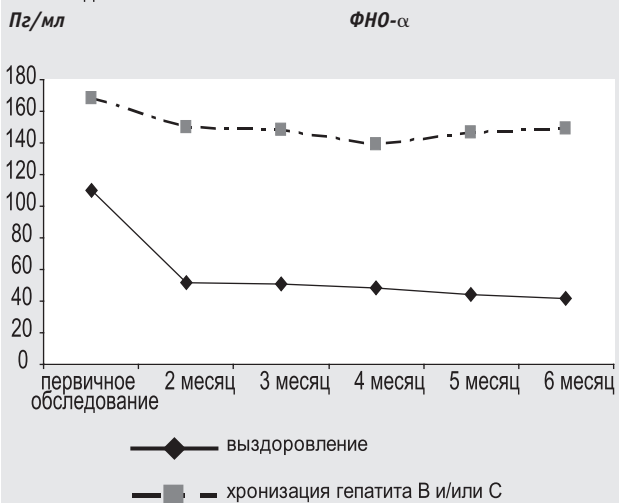
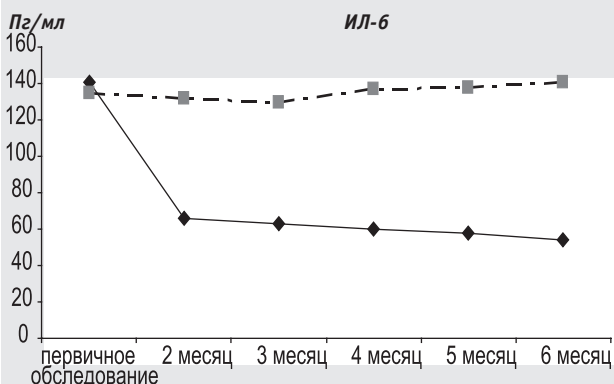
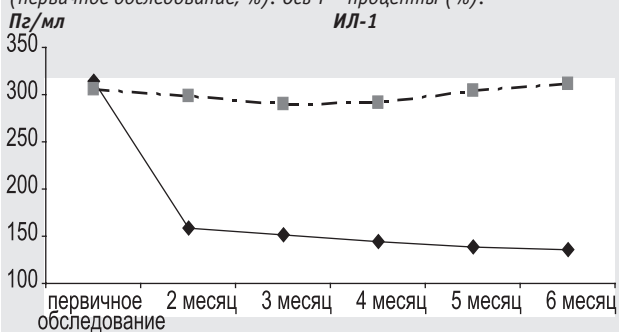


РИС. 2.
Динамика цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО-α у больных острой сочетанной HBV/HCV-инфекцией с разными исходами.

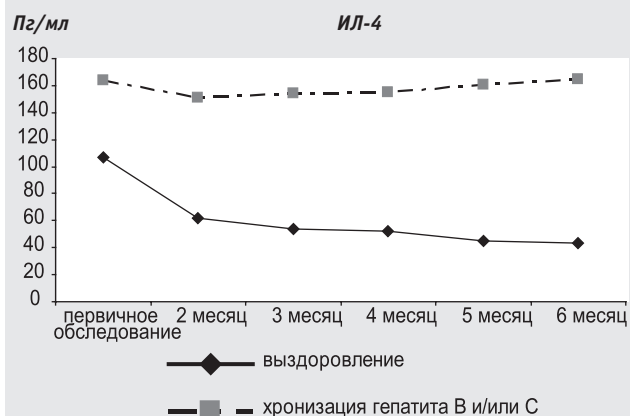
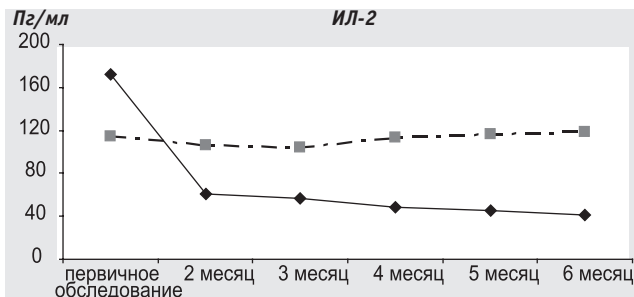


РИС. 3.
Динамика цитокинов ИЛ-2, ИЛ-4 у больных острой сочетанной HBV/HCV-инфекцией с разными исходами.

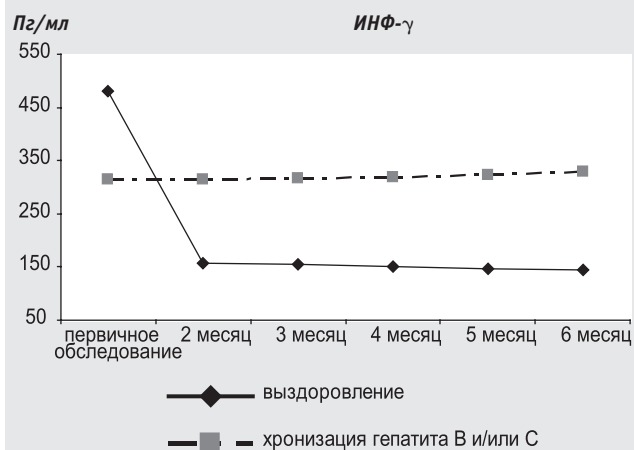
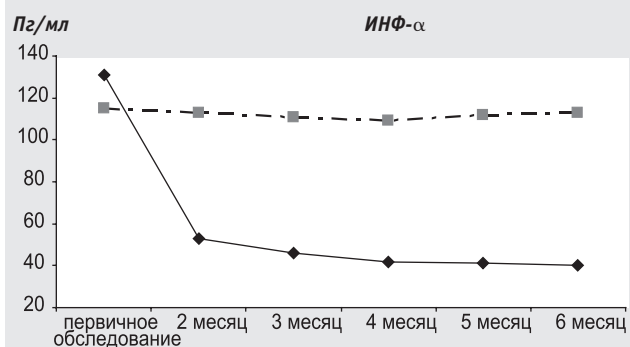


РИС. 4.
Динамика цитокинов ИНФ-α, ИНФ-γ у больных острой сочетанной HBV/HCV-инфекцией с разными исходами.

повышение уровня данных цитокинов до 3 норм, у остальных больных (24 из 25) содержание ИЛ-4 и ФНО- α были значительно ниже этого уровня. На 2-м месяце наблюдения высокие значения показателей ИЛ-4 и ФНО- α сохранялись, соответственно, у 92,4% (49 из 53) и у 90,5% (48 из 53) больных с хронизацией, соответственно. Шанс хронизации при наличии таких данных в 5,6 раза и 5,4 раза выше, чем при значениях, соответствующих норме или близких к нормальным. У преимущественного большинства больных 1-й группы (88%, $p < 0,001$) отмечена нормализация уровня этих цитокинов на 5–6-й неделе наблюдения. Лишь у 3 из 25 больных уменьшение содержания ИЛ-4 и ФНО- α до нормальных показателей было зарегистрировано позже – в начале 3-го месяца наблюдения.

При оценке уровня ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИНФ- α по данным первичного обследования достоверных различий в 1-й и 2-й группах больных не выявлено (таблица 2). Вместе с тем, на 2-м месяце наблюдения повышенные показатели ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИНФ- α зарегистрированы у 86,8% (46 из 53) больных с последующей хронизацией. С другой стороны, в 1-й группе в течение данного срока наблюдения у большей части больных (21 из 25 – 84%) отсутствовали высокие значения ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИНФ- α .

Дальнейшее наблюдение до конца 6 месяца показало еще большее различие в средних значениях изучаемых медиаторов у больных с разными исходами сочетанной инфекции. Так, у больных 1-й группы содержание провоспалительных и противовоспалительных цитокинов сохранялось нормальным до конца срока наблюдения (рис. 2, 3, 4). Среди больных с последующей хронизацией гепатита В и/или гепатита С (2-я группа) в течение последующих 4 месяцев наблюдения отмечалось постепенное нарастание уровня цитокинов и через полгода от первичного обследования средние значения этих медиаторов либо соответствовали содержанию при первичном обследовании либо их уровень даже был выше. Такое стойкое сохранение повышенных значений изучаемых медиаторов у больных 2-й группы характеризовало продолжающуюся репликацию HCV и/или HBV и активизацию как Th-2 лимфоцитов, так и Th-1 эффекторного звена иммунитета, направленного на подавление репликации вирусов.

Заключение

Таким образом, достоверно высокий уровень ИЛ-2 и ИНФ- γ (3 нормы и больше) у больных острой сочетанной HBV/HCV-инфекцией в начальном периоде болезни (первичное обследование – первые 2–3 недели заболевания) с быстрыми динамическими изменениями – снижение их содержания практически до нормального уровня (через 1 месяц) – можно рассматривать как прогностический критерий выздоровления после гепатита В и гепатита С в структуре сочетанной инфекции. С другой стороны, критерием прогноза хронизации HBV- и/или HCV-процесса в структуре острой сочетанной инфекции может служить достоверно высокое (3 нормы и больше) содержание ИЛ-4 и ФНО- α при первичном обследовании с последующим стойким сохранением на том же уровне на протяжении всего срока наблюдения (до конца 6 месяца наблюдения).



ЛИТЕРАТУРА

1. Маев И.В., Никушкина И.Н., Самсонов А.А. Особенности сочетанного (HBV/HCV-инфекция) вирусного поражения печени. Тер. архив. 2008. № 80 (2). С. 57–61.
2. Никитин И.Г. Рекомендации по диагностике и подходам к лечению хронического гепатита В. Гастроэнтерология, гепатология. 2008. № 2 (156). С. 4–18.
3. Горбаков В.В., Хазанов А.И., Блохина Н.П. Естественное течение сочетанных вирусных гепатитов В и С. Клини. микр. и антимикр. химиотер. 2001. № 3. С. 209–214.
4. Caccilova I., Pollicino T., Squadrito J. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. N. Engl. J. Med. 1999. № 341. Р. 22–26.
5. Бакулин И.Г. Актуальные вопросы противовирусной терапии хронических гепатитов В и С. Эксперим. и клинич. гастроэнтерология. 2010. № 5. С. 3–9.
6. Бударина Н.А. Фактор некроза опухоли- α при хроническом гепатите В+С. Тез. науч.-практ. конференции «Инфектология и паразитология». М. 2009. 45 с.
7. Кожевников В.С., Хохлова Н.И., Сеников В.В. и др. Значение оценки ранней активации субпопуляций лимфоцитов и внутриклеточной продукции интерферона- γ в клинической диагностике острых вирусных гепатитов А и В. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2007. № 5. С. 36–40.
8. Курамшин Д.Х., Толоконская Н.П., Кожевников В.С. и др. Субпопуляции лимфоцитов и уровень провоспалительных цитокинов в крови больных вирусным гепатитом С и сочетанным вариантом С+В. Журн. микробиол. 2002. № 1. С. 42–48.
9. Собчак Д.М., Монакова Э.А. Особенности иммунопатогенеза HCV-инфекцией. Нижегород. мед. журн. 2004. № 4. С. 174–178.
10. Соболевская О.Л., Корочкина О.В. Особенности микст-гепатита В+С острого и хронического течения (клинико-иммунологические параллели). Нижегород. мед. журн. 2002. № 2. С. 10–12.
11. Собчак Д.М., Корочкина О.В., Соболевская О.Л. Оценка показателей медиаторов иммунного ответа у больных острым гепатитом С при комбинированной противовирусной терапии. Клиническая медицина. 2006. № 12. С. 47–50.