И.М. ХАЕРТЫНОВА, А.П. ЦИБУЛЬКИН, О.М. РОМАНЕНКО, Н.Н. СОФРОНОВА, К.С. ХАЕРТЫНОВ
Казанская государственная медицинская академия

УДК 612.017

Выраженность гуморального иммунного ответа при HCV моно- и HCV/HIV-коинфекции

Хаертынова Ильсияр Мансуровна
доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой инфекционных болезней
420101, г. Казань, ул. Карбышева, д. 63, корп. 2, кв. 26, тел. (843) 267-81-17, e-mail: khaer@mi.ru

Изучены клинико-биохимические особенности течения хронического вирусного гепатита С в группе HCV/HIV-коинфицированных пациентов. Проведены анализ данных динамики изменений гуморального иммунного ответа на антигены вируса гепатита С у больных с хроническим вирусным гепатитом, сравнительное изучение соотношения специфических противовирусных антител в сыворотке крови и в циркулирующих иммунных комплексах. Обсуждены особенности образования антител на стадии иммунодефицита у ВГС/ВИЧ-коинфицированных пациентов.

***Ключевые слова**: HCV-инфекция, HIV-инфекция, коинфекция HCV/HIV, специфический гуморальный иммунный ответ.*

I.M. KHAERTYNOVA, A.P. TSIBULKIN, O.M. ROMANENKO, N.N. SOFRONOVA, K.S. KHAERTYNOV
Kazan State Medical Academy

Severity of the humoral immune response in HCV mono-and coinfection HCV/HIV

Clinical and biochemical features of chronic hepatitis C in group HCV / HIV-coinfected patients were studied. The analysis of data changes the dynamics of the humoral immune response to antigens of hepatitis C virus in patients with chronic viral hepatitis, a comparative study of the relation of specific antiviral antibodies in serum and circulating immune complexes was producted. The characteristic features of antibody formation at the stage of immunodeficiency in HCV/HIV-coinfected patients were discussed.

***Keywords**: HCV-infection, HIV-infection, coinfection with HCV / HIV, specific humoral immune response.*

В новом столетии социально значимые инфекции, такие как вирусные гепатиты и ВИЧ-инфекция, превратились в проблему глобального масштаба. Число лиц, инфицированных HCV, в настоящее время превышает 4-5% от численности населения планеты и в 4 раза — число инфицированных вирусом иммунодефицита человека (HIV). Ввиду общности путей передачи значительная часть больных коинфицированы двумя вирусами одновременно [8]. И хотя пути трансмиссии обоих вирусов одинаковы, уровень одновременного инфицирования вирусами HCV и HIV колеблется от 15 до 90% в зависимости от пути передачи. Наиболее высокие проценты коинфицирования регистрируются преимущественно при парентеральном введении наркотических средств [2, 6]. Доказано, что у 10-12% больных хронической HCV-инфекцией в течение 20 лет формируется цирроз печени (ЦП). Компенсированный ЦП, обусловленный HCV-инфекцией, переходит в стадию декомпенсации в течение 4-5 лет у 18-20% больных, а риск развития гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) составляет 9-11% [3,1]. Ожидается, что к 2020-2030 гг. численность больных ЦП и ГЦК увеличится на 60%, а смертность от заболеваний печени возрастет в 2 раза [4]. Однако при наличии других неблагоприятных кофакторов (в том числе ВИЧ-инфекции) течение болезни может приобретать более агрессивные формы с уменьшением сроков и увеличением числа больных с конечными стадиями заболевания печени. Сложившаяся ситуация по коинфекции указывает на то, что эта проблема из чисто медицинской превратилась в остро социальную и представляет реальную угрозу для национальной безопасности страны [4]. Хроническая HCV-инфекция занимает одно из ведущих мест в списке причин смертности ВИЧ-инфицированных в ведущих клиниках Европы и Америки [5,8]. В первую очередь это связано со способностью вируса HIV модифицировать естественное течение HCV-инфекции, ускоряя темпы прогрессирования заболевания и увеличивая частоту формирования ЦП и ГЦК [7].

Характер иммунного ответа при HCV-инфекции определяется как состоянием иммунной системы пациента, так и антигенов

вируса. Геном вируса представлен одноцепочечной линейной молекулой РНК, содержит три структурных и четыре неструктурных белка. Структурными являются нуклеокапсидный белок (core), а также Е1 и Е2 гликопротеиды оболочки, неструктурными — С-концевые белки с ферментативной активностью (NS2, NS3, NS4, NS5). К каждому из указанных белков возможна выработка антител, которые образуются на различных сроках заболевания, с различной степенью интенсивности. Острая фаза HCV-инфекции сопровождается образованием анти-core IgM антител. Латентная фаза — значительным снижением выраженности ответа или его полным отсутствием в фазе клинико-биохимической ремиссии. Однако, для обеих фаз течения ВГС типично наличие в крови анти-core и анти-NS3, -NS4 и -NS5 антител класса IgG. Различия в динамике образования анти-HCV IgG с различной антигенной специфичностью мало изучены при HCV/HIV-коинфицировании.

Цель настоящего исследования: оценить клинико-биохимическую характеристику и состояние специфического гуморального иммунного ответа при HCV моно- и HCV/HIV-коинфекции в динамике заболевания.

Под наблюдением находились 151 пациент с HCV инфекцией: 46 — HCV-моно- и 105 — HCV/HIV-коинфекцией. Средний возраст больных составил 39±16 года. Спектр анти-HCV в сыворотке крови и в составе циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) изучали методом ИФА на тест-системах «РекомбиБест анти-ВГС» (ЗАО «Вектор-Бест») с последующим определением спектра антител к структурным и неструктурным белкам HCV методом иммуноблоттинга «INNO-LIA TM HCV Ab III update» (фирма «INNO GENETICS», Бельгия). Для выделения ЦИК использовали 7% концентрацию полиэтиленгликоля с молекулярной массой 6000. Специфические антитела из состава ЦИК выделяли путем диссоциации последних. Результаты реакции оценивали визуально и инструментально в отраженном свете на сканере SHARP JX-330 с использованием программы Image Master 10 Print версия 3.0 «Pharmacia Biotech» (Швеция). Количественные показатели выражали в единицах оптической плотности (ед. опт. пл.).

Периоды клинико-биохимического обострения у больных ХГС, как при HCV-моно-, так при HCV/HIV-коинфекции, характеризовались скудностью клинической симптоматики, преимущественно неспецифической (внепеченочной) картиной. Однако если гепатомегалия и инфекционно-токсический синдром встречались в обеих группах с одинаковой частотой (от 70 до 85%), то для моноинфекции типичным было наличие абдоминального синдрома в виде тяжести/боли в правом подреберье и непостоянная желтушность склер. При HCV/HIV-коинфекции клиническую картину формировали симптомы, типичные, прежде всего, для ВИЧ-инфекции: лимфоаденопатия, высыпания на коже/слизистых, эпизоды лихорадки и диареи. Частота и выраженность их коррелировали со стадией ВИЧ-инфекции. Биохимические показатели в обеих группах сопровождались увеличением активности ферментов АлАТ и АсАТ. Обострение ХГС в обеих группах сопровождалось репликативной активностью вируса. Вирусная РНК-HCV обнаруживалась у 76% больных с моно- и у 79% больных с коинфекцией. Повышение концентрации вирусных антигенов в период обострения стимулировало специфический иммунный ответ с появлением в крови анти-HCV класса IgM у большинства больных (>90%) обеих групп.

Образование антител класса IgG к структурным и неструктурным белкам HCV в период обострения имело определенные особенности — прежде всего более низкая частота ответа анти-core антител класса IgG в обеих группах больных, хотя у пациентов с коинфекцией выявляемость антител данной специфичности на 14% превышала таковую при моноинфекции. Иммунный ответ на неструктурные белки HCV оказался более высоким и анти-NS3 и анти-NS4 антитела в обеих группах обнаруживались с одинаковой частотой (от 87 до 91%). В отношении анти-NS5 антител у больных с коинфекцией процент положительно реагирующих сывороток составлял 65% против 85 в группе моноинфицированных.

Таким образом, период обострения ХГС как при HCV-моно-, так и при HCV/HIV-коинфекции сопровождается клиническими, биохимическими и иммунологическими признаками. По ряду иммунологических критериев данный период напоминает острую фазу заболевания, прежде всего по частоте (свыше 90%) выявления анти-HCV антител класса IgM, что отражает наличие активной репликации вируса HCV. Особенностью же периода обострения была высокая частота выявления антител класса IgG к неструктурным белкам.

Период клинической ремиссии достигался в среднем через 1-3 месяца интенсивной терапии и сопровождался значительным снижением активности АлАТ и АсАТ, хотя они при этом редко достигали нормальных величин и с разбросом в 1,5-2 раза превышали показатели здоровых лиц. В периоде ремиссии интенсивность гуморального иммунного ответа ослабевала и частота анти-HCV IgM в группе больных ХГС при HCV-моноинфекции снижалась более чем в 2 раза (табл. 1). Не менее значительным было снижение образования антител класса IgG к структурным (core) и неструктурным (NS3, NS5 и в меньшей степени NS4) белкам.

Таблица 1.
Частота анти-HCV у больных ХГС в фазе клинического обострения и ремиссии при HCV-моно- и HCV/HIV-коинфекции (метод ИФА — в%)

Показатели	Фазы заболевания			
	Обострение		Ремиссия	
	HCV	HCV/HIV	HCV	HCV/HIV
анти-HCV IgM	**91,2**	**91,3**	**41,7**	**52,9**
анти-HCV IgG				
— core	55,9	69,6	33,3	88,2
— NS3	88,2	86,9	25,0	70,6
— NS4	91,2	86,9	66,6	67,6
— NS5	85,2	65,2	50,0	58,8

Ремиссия у больных с HCV/HIV-коинфекцией имела некоторые особенности. Иммунологические признаки ее были менее выраженными. У более половины обследованных в периоде клинической ремиссии продолжали определяться анти-HCV IgM антитела. Образование же антител класса IgG не снижалось. Следовательно, в группе больных ХГС на фоне HCV/HIV-коинфицирования полноценной ремиссии, подтвержденной серологическими данными, не наступало.

Применение иммуноблот (ИБ) анализа позволило не только воспользоваться высокой специфичностью метода, но и достичь увеличения его чувствительности. Число положительно реагирующих больных в периоде обострения ХГС достигало 100% практически по всем типам антигенов и только при HCV/HIV-коинфекции на антигены NS5 составляло 95,1%. Данное исследование еще раз подтвердило 100% инфицирование вирусом HCV всех больных.

Количественная оценка выраженности иммунного ответа на антигены HCV методом ИБ показала, что максимальная выраженность иммунного ответа у больных ХГС в периоде обострения зарегистрирована на антиген NS3, его уровень в сыворотке крови составил 25,11±1,95 ед. опт. пл. (табл. 2).

Выраженность ответов на антигены NS4 и NS5 была ниже. Показатели на core-антиген занимали промежуточное положение. Несовпадения результатов по частоте выявления антител класса IgG к антигенам HCV в периоде обострения ХГС, полученных методами ИФА и ИБ, связаны с различиями в специфичности и чувствительности методов.

Таблица 2.
Анти-HCV класса IgG у больных ХГС в фазах клинического обострения и ремиссии методом ИБ в сыворотке крови и в составе ЦИК (ед. опт. пл.)

Показатели		Фаза обострения		Фаза ремиссии	
		сыворотка	ЦИК	сыворотка	ЦИК
анти-HCV IgG	— core	16,50±0,54	5,98 ±0,33	14,75± 0,33*	6,50 ±0,42
	— NS3	25,11±1,95	17,51 ±0,69	26,42± 1,50	16,96 ±0,37
	— NS4	8,49±0,41	10,67 ±0,32	9,09± 0,51	8,55 ±0,90
	— NS5	6,39±0,52	0	6,38± 0,47	0

Однако число пациентов с положительными результатами выявления антител к неструктурным белкам в методах ИФА и ИБ оказалась близкой (соответственно 86-91% и 100%). Количественная же оценка выраженности иммунного ответа методом ИБ указывала в большей степени на иммуногенность различных антигенов вируса. Таким образом, максимальной иммуногенностью в периоде обострения ХГС обладали неструктурный NS3 и нуклеокапсидный (core) вирусные белки.

Представляли интерес данные, полученные при изучении анти-HCV класса IgG методами ИФА и ИБ (количественная оценка) в периоде ремиссии. Процент ИФА-положительных ответов существенно снижался ко всем изучаемым антигенам HCV, в то время как количественные показатели не изменялись. Снижение с 16,50±0,54 до 14,75±0,33 ед. опт. пл. ($p<0,05$) отмечалось только для анти-core антител. Было проведено изучение анти-HCV у больных ХГС в динамике заболевание в течение 5 лет (табл. 3). Содержание анти-core IgG в сыворотке больных ХГС было максимальным в течение первого года заболевания как при HCV-моно-, так при HCV/HIV-коинфекции. Однако к 3–5-у году болезни оно начинало постепенно снижаться. Концентрация анти-NS3 в сыворотке больных обеих групп с годами наоборот возрастала. Выраженность иммунного ответа на оставшиеся белки (NS4 и NS5) изменялась незначительно. Представленная закономерность сохранялась в обеих группах до развития иммунодефицита у коинфицированных больных.

На фоне иммунодефицита, подтвержденного снижением числа CD4+ клеток с 0,62±0,04 до 0,305±0,05, падение уровня анти-core IgG было максимальным и достигало 10,89 ед. опт. пл. ($p< 0,001$). В IVA стадии ВИЧ-инфекции изменялся даже характер ответа на NS3 антигены. Вместо постоянного увеличения уровня анти-NS3, наблюдаемого в динамике ХГС, в IVA стадии ВИЧ-инфекции выявлено достоверное его снижение ($p<0,001$). Следовательно, обнаруженные изменения антителообразования в динамике ХГС (снижение уровня анти -core и постепенное увеличение анти-NS3) не были связаны с возможностью прогрессирующего иммунодефицита. Иммунодефицит в IVA стадии ВИЧ-инфекции сопровождался падением образования анти-HCV антител практически всех специфичностей.

Изучение анти-HCV класса IgG показало, что антитела различной специфичности способны входить в состав ЦИК (табл. 2). Качественный метод ИБ анализа позволил обнаружить 100%-ное их участие в формировании ЦИК с NS3 антигенами. Достаточно частым (87-90%) было участие в образовании специфических ЦИК антител класса IgG к антигенам core. Участие в образовании специфических ЦИК анти-NS4 было менее выраженным и практически полностью отсутствовали иммунные комплексы, построенные на основе антител к NS5 неструктурным белкам. Полученные результаты указывали не только на высокие иммуногенные, но и на антигенные свойства неструктурного белка NS3, что проявлялось в формировании максимального уровня ЦИК с антигенами данной специфичности.

Важными оказались результаты исследований уровня специфических анти-HCV в составе ЦИК на различных сроках наблюдения (табл. 3) Особенностью динамики содержания анти-core и анти-NS3 антител в составе ЦИК у больных ХГС при моноинфекции было постепенное и достоверное увеличение их количества к 4–5-у году течения заболевания. При этом максимально выраженным (>2 раз) было увеличение в ЦИК содержания анти-NS3, что соответствовало изменению их уровня в сыворотке. Одновременное увеличение содержания анти-NS3 класса IgG как в сыворотке, так я в составе ЦИК в динамике течения ХГС, свидетельствует о постепенно возрастающей стимуляция иммунного ответа на данный антиген. Указанные антитела не могут рассматриваться как протективные, но, несомненно, являются следствием сохранения репликации вируса HCV. Одновременное увеличение в составе ЦИК анти-core IgG, содержание которых в сыворотке постепенно снижалось (табл. 3), казалось бы, несет в себе необъяснимые противоречия. Однако результаты исследований по аналогичной методике выделения антител из состава ЦИК указывали на быстрый

Таблица 3.
Уровень анти-HCV класса IgG у больных ХГС при HCV-моно- и HCV/HIV-коинфекции методом ИБ в сыворотке крови и в составе ЦИК (в ед. опт. пл.)

Анти-HCV IgG		HCV-моноинфекция			HCV/HIV-коинфекция		
		до 1 г.	1-3 года	3-5 лет	до 1 года	1-3 года	3-5 лет
Сыворотка	— core	18,7±0,7	17,9±1,0	16,3±0,5*	16,3±0,36	14,6±0,7	14,1±0,4
	— NS3	19,4±0,6	23,3±1,1*	24,1±0,5*	20,1±0,8	20,9±0,6	22,2±0,7
ЦИК	— core	2,2±0,4	4,3±0,5	5,5±0,4	3,9±0,22	4,5±0,4	4,7±0,24
	— NS3	9,21±0,9	15,2±0,7	19,1±1,1*	14,8±0,5	13,5±0,4	14,1±0,3

переход специфических IgG антител в состав ЦИК вплоть до полного исчезновения их из крови. Увеличенный же уровень перехода как анти-core, так и анти-NS3 антител в динамике ХГС, может быть связан как с выраженностью репликации вируса и уровнем циркулирующего антигена, так и с возможностью повышения аффинности связывания антител.

При сравнении полученных данных с результатами изменения содержания анти-core и анти-NS3 антител в составе ЦИК у HCV/HIV-коинфицированных больных отмечено, что показатели не имели тенденции к увеличению, они недостоверно колебались около исходных значений в течение всего периода наблюдения. Как и в сыворотке, происходило постепенное снижение количества в составе ЦИК анти-core и анти-NS3 антител — соответственно с 5,29±0,35 до 3,9±0,42 ед. опт. пл. ($p<0,01$) и с 12,13±0,4 до 9,17±0,32 ед. опт. пл. ($p<0,001$) по мере развития иммунодефицита. Кроме того, на стадии IVA ВИЧ-инфекции у коинфицированных больных в составе ЦИК не определялись ни анти-NS4, ни анти-NS5 антитела. Поскольку в сыворотке крови анти-NS4 на этой стадии ВИЧ-инфекции обнаруживались в достаточных концентрациях (7,04±0,56 ед. опт. пл.), полученный результат может свидетельствовать о том, что развивающийся иммунодефицит не только тормозит образование антител, но и влияет на взаимосвязь последних с циркулирующими вирусными антигенами.

Период обострения ХГС характеризуется необычно высокой частотой (>90%) появления анти-HCV антител класса IgM. Отличием периода обострения от острой стадии ВГС является высокая частота определения антител к неструктурным белкам вируса.

Клинико-биохимическая ремиссия ХГС не сопровождалась полноценной иммунологической ремиссией. На это указывали сохранение у половины больных анти-HCV антител класса IgM и отсутствие снижения частоты положительных ИФА ответов на неструктурные антигены, особенно отчетливо выраженные при HCV/HIV-коинфекции. В пользу сохранения иммунного ответа и наличия вирусного антигена в крови больных ХГС в периоде клинико-биохимической ремиссии свидетельствовало также сохранение количественных показателей образования специфических анти-core, -NS3, -NS4 и -NS5 IgG антител и сохранение формирования специфических ЦИК к основным антигенам HCV. О наличии постоянной HCV-антигенной стимуляции можно судить и по динамике нарастания выраженности иммунного ответа на NS3 белок у больных ХГС.

На сегодняшний день отсутствуют прямые доказательства противовирусного действия анти-HCV IgG антител. Однако значительное увеличение уровня ЦИК, содержащих в высоких концентрациях специфические антитела, косвенно свидетельствует о таких возможностях. Агрегируя вирусы и приводя их к дальнейшему повреждению системой комплемента или путем фагоцитоза, ЦИК снижают уровень виремии.

У коинфицированных больных гуморальный иммунный ответ на антигены HCV достигал наибольшей выраженности на стадии IVA ВИЧ-инфекции. Иммунодефицит, подтвержденный снижением числа CD4+ клеток, сопровождался подавлением гуморального иммунного ответа как на «сильные» в антигенном отношении (NS3, core), так и на «слабые» (NS4 и NS5) компоненты вируса. С одной стороны, это может привести к затруднению диагностики HCV-инфекции у больных с коинфекцией. С другой стороны, снижение уровня специфических антител может неоправданно восприниматься как развитие фазы иммунологической ремиссии у больных ХГС.

Не менее важны факты значительного снижения уровня ЦИК, включающих антитела к иммуногенно-сильным антигенам вируса, и практически полного исчезновения ИК с участием антител к NS4 и NS5. Это может вторично привести к увеличению HCV виремии. В пользу последнего положения могут свидетельствовать данные о значительном увеличении вирусной нагрузки РНК-HCV у коинфицированных больных на фоне развивающегося иммунодефицита.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бурневич Э.З., Лопаткина Т.Н., Никулкина Л.Н. Противовирусная терапия цирроза печени в исходе хронического гепатита С // Вирусные гепатиты: достижения и перспективы. — Информ. бюллетень. — № 2 (21). — 2005. — С 3.

2. Зайцев И.А., Кобзева В.В. Особенности течения хронических вирусных гепатитов у больных ВИЧ-инфекцией // Гепатологический форум. — 2008. — № 4. — С 2-6.

3. Лопаткина Т.Н. Возможности противовирусной терапии хронического гепатита С у больных, злоупотребляющих алкоголем // Гепатологический форум. — № 4. — 2005. — С. 28.

4. Мамедов М.К., Михайлов М.И. К двадцатилетию идентификации вируса гепатита С // Журн. микробиол. — 2010. — № 5. — С. 120-124.

5. Шахгильдян И.В., Михайлов М.И., Онищенко Г.Г. Парентеральные вирусные гепатиты (эпидемиология, диагностика, профилактика) // М., 2003. — С. 50-57.

6. Lai C.L., Ratziu V., Yuen M.F., Poynard T. Viral hepatitis B. // Lancet, 2003, 362, 2089-2094.

7. Seden K., Back D., Khoo S. New directly acting antivirals for hepatitis C: potential for interaction with antiretrovirals // Journal Antimicrob Chemother 2010; 65: 1079-1085.

8. Soriano V., Barreiro P. and Nunez M. Management of chronic hepatitis B and C in HIV-coinfected patients // Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2006) 57, 815-818.

ПОДПИСНОЙ ИНДЕКС ЖУРНАЛА «ПРАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА»

В КАТАЛОГЕ «РОСПЕЧАТЬ» 37140

В РЕСПУБЛИКАНСКОМ КАТАЛОГЕ ФПС «ТАТАРСТАН ПОЧТАСЫ» 16848