

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ СОЧЕТАННЫМ ГЕПАТИТОМ В+С ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ

О.Л. Соболевская

Нижегородская государственная академия, Нижний Новгород

Change of the indices of the cytokine status in patients with chronic combined hepatitis B+C in a process of antiviral therapy

O.L. Sobolevskaya

Nizhegorodskaya State Medical Academy, Nizhniy Novgorod

Резюме. Изучен цитокиновый статус у пациентов с хроническим сочетанным гепатитом В+С в процессе противовирусной терапии. Обследованы 49 больных в возрасте от 18 до 47 лет (пегилированный интерферон-альфа2а и рибавирин были назначены 24 пациентам). Установлено, что значительное повышение содержания интерферона- α , интерферона- γ и фактора некроза опухоли- α (с последующим снижением) в сыворотке крови у больных с устойчивым вирусологическим ответом служит ранним критерием эффективности противовирусной терапии.

Ключевые слова: хронический сочетанный гепатит В+С, цитокины, противовирусная терапия.

Введение. На современном этапе изучения вирусных гепатитов методы и схемы противовирусной терапии (ПВТ) хронического сочетанного гепатита В + С находятся на этапе разработки [1, 2]. «Золотым стандартом» лечения хронического гепатита С (ХГС) является комбинированная терапия пегилированными интерферонами- α (ПЭГ-ИНФ- α) и рибавирином [3, 4, 5]. Эффективность лечения при определении 1b генотипа HCV достигает 60%, а при выявлении «не 1b» генотипа — даже выше (80 — 90%). С другой стороны, до настоящего времени однозначного подхода к выбору противовирусных препаратов для лечения хронического гепатита В (ХГВ) нет [6, 7]. Препаратами первой линии, наряду с нуклеотидными аналогами, являются препараты ПЭГ-ИНФ [3, 7]. Тем не менее, ряд исследователей отмечают, что совместное применение этих препаратов не дает существенного повышения эффективности терапии [3, 6, 7]. Вместе с тем, с учетом иммуностимулирующего и иммунокорректирующего действия ПЭГ-ИНФ, возможно его использование для лечения хронического сочетанного гепатита В + С.

Принято считать, что характеристики вируса гепатита В (HBV) и С (HCV), такие как вирусная на-

Abstract. The author studied the cytokine status in patients with chronic combined hepatitis B+C in a process of antiviral therapy. The examination embraced 49 patients aged from 18 to 47 years (pegylated interferon- α and ribavirin were used in 24 patients). It is established, that a significant increase of the interferon- α , interferon- γ , tumor necrosis factor- α (with following decrease of tumor necrosis factor- α) in blood serum content in patients with a stable virologic response serves as an early criterion of the antiviral therapy effectiveness.

Key words: chronic combined hepatitis B+C, cytokines, antiviral therapy.

грузка и при ХГС — генотип вируса, тесно связаны с ответом на ПВТ и рассматриваются в качестве прогностических критериев эффективности лечения [3, 9]. Вместе с тем, именно характер иммунного ответа может определять дальнейшее развитие и течение как хронических моноинфекций HBV и HCV, так и сочетанного гепатита В + С [9, 10, 11]. В связи с этим в анализ результатов лечения, наряду с характеристикой репликативной активности вирусов, взята оценка показателей иммунного ответа.

Цель исследования — изучение содержания интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β), ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, фактора некроза опухоли- α (ФНО- α), интерферона- α (ИНФ- α), ИНФ- γ в сыворотке крови больных хроническим сочетанным гепатитом В + С с высокой репликативной активностью HBV и HCV на фоне противовирусного лечения и разработка системы прогнозирования эффективности ПВТ.

В работе решались следующие задачи:

- определение содержания медиаторов иммунного ответа до и после ПВТ;
- изучение содержания медиаторов иммунного ответа при развитии УВО;
- определение критериев прогноза эффективности ПВТ.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 49 больных хроническим сочетанным гепатитом В+С с высокой репликативной активностью обоих вирусов (30 мужчин и 19 женщин в возрасте от 18 до 47 лет), из которых 24 получали ПВТ (I группа) и 25 – базисную терапию (II группа). Диагноз устанавливался с учетом клинико-эпидемиологических и лабораторных данных, верифицирован обнаружением серологических маркеров HBV и HCV иммуноферментным методом и обнаружением ДНК HBV и РНК HCV методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Необходимо отметить, что в группу больных, получавших ПВТ, вошли 5 пациентов с латентной HBV-инфекцией (обнаружены HBV ДНК и antiHBsAg сумм при отсутствии других маркеров гепатита В – HBeAg, antiHBe, antiHBsAg IgM, HBsAg) в структуре сочетанного гепатита.

Уровень цитокинов определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем производства «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург). В целях уточнения пределов нормальных колебаний значений цитокинов (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 (53,4 \pm 10,4, 56,3 \pm 4,2, 53,2 \pm 4,1, 58,4 \pm 4,5, 44,3 \pm 3,1, 48,3 \pm 3,2, 156,4 \pm 10,6 Пг/мл соответственно).

Больные I группы получали комбинированную терапию: пегасис в дозе 180 мкг/кг массы 1 раз в неделю подкожно и рибавирин 10,6 мг/кг массы в сутки ежедневно. Продолжительность лечения не зависела от генотипа HCV, поскольку у всех больных определялась HBV ДНК, и составила 48 недель. Основным критерием оценки результатов лечения являлась динамика маркеров активной репликации вирусов (HCV РНК, HBV ДНК и HBeAg), а также динамический контроль за HBsAg. Клинико-лабораторный контроль проводился до начала ПВТ, в процессе динамического наблюдения во время лечения, по окончании терапии и в течение 2–3 лет после окончания терапии.

В соответствии с требованиями вариационной статистики вычисляли среднюю арифметическую (M), среднюю ошибку арифметической (m), коэффициент корреляции (r). С целью выяснения взаимосвязи изменений разных показателей был использован критерий Стьюдента (t). Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Прежде всего, следует отметить, что у большинства больных I (у 17 из 24, 70,8%) и II (у 15 из 25, 60%) групп концентрация как HCV РНК, так и HBV ДНК не превышала 10^3 копий/мл, что подтверждало данные о взаимоподавляющем действии вирусов при смешанном гепатите В+С [1]. В I группе развитие УВО в отношении ХГС зарегистрировано у 18 (75%) больных,

а благоприятный исход ХГВ после ПВТ наблюдался у 14 больных (58,3%). Из 5 больных с наличием латентной хронической HBV-инфекции УВО был зарегистрирован у двоих. С другой стороны, среди больных, не получавших ПВТ, ни у кого не зарегистрировано исчезновение HCV РНК, и лишь у 1 пациента наблюдались исчезновение HBV ДНК и сероконверсия HBeAg/antiHBe на фоне сохранения HBsAg-емии.

Известно, что изменения показателей цитолиза, как правило, соответствуют динамике маркеров активной репликации HBV и HCV. В нашем исследовании у больных I группы зарегистрировано повышение средних значений АлАТ на 7–8-й неделе терапии с последующим снижением через 1–2 недели. В дальнейшем по окончании ПВТ у больных этой группы уровень АлАТ стал значительно ниже по сравнению с исходным ($2,56 \pm 0,019$ ммоль/л·ч и $1,19 \pm 0,014$ ммоль/л·ч, $p = 0,036$). С другой стороны, у пациентов II группы в те же сроки наблюдения отмечено незначительное снижение АлАТ ($2,75 \pm 0,019$ ммоль/л·ч и $2,47 \pm 0,016$ ммоль/л·ч, $p = 0,536$).

Результаты динамического контроля за содержанием медиаторов иммунного ответа показали существенное снижение ИЛ-1 β , ИЛ-6 по окончании терапии по сравнению с исходными значениями более чем у половины больных (66,7%, 58,3% соответственно), получавших ПВТ ($p = 0,024$, $p = 0,036$ соответственно, рис. 1). Во II группе незначительное снижение ИЛ-1 β , ИЛ-6 наблюдалось только у 12%, 16% больных соответственно и средние значения цитокинов практически не изменились ($p = 0,386$, $p = 0,418$ соответственно, рис. 1).

Следует отметить особую динамику ФНО- α на фоне ПВТ. Как видно на рисунке 1, у больных I группы на 4–5-й неделе терапии наблюдалось повышение средних значений ФНО- α с последующим снижением на 6–8-й неделе. В дальнейшем динамика этого цитокина характеризовалась существенным снижением в процессе ПВТ (до ПВТ – $161,3 \pm 13,5$ Пг/мл, по окончании – $80,7 \pm 8,5$ Пг/мл, $p = 0,042$). Кроме того, между показателями АлАТ и ФНО- α выявлена прямая корреляция слабой интенсивности ($r = 0,17$). С другой стороны, у больных II группы значения ФНО- α изменялись незначительно в те же сроки обследования ($p = 0,482$, см. рис.1).

Иная тенденция была отмечена при оценке уровня ИЛ-2, ИНФ- α и ИНФ- γ . Как показано на рисунке 2, у больных, получавших ПВТ, наблюдалось значительное их повышение по сравнению с соответствующими значениями до начала терапии ($p = 0,023$, $p = 0,035$, $p = 0,038$ соответственно). У больных II группы содержание ИЛ-2, ИНФ- α и ИНФ- γ оставалось практически без изменений ($p = 0,463$, $p = 0,512$, $p = 0,375$ соответственно,

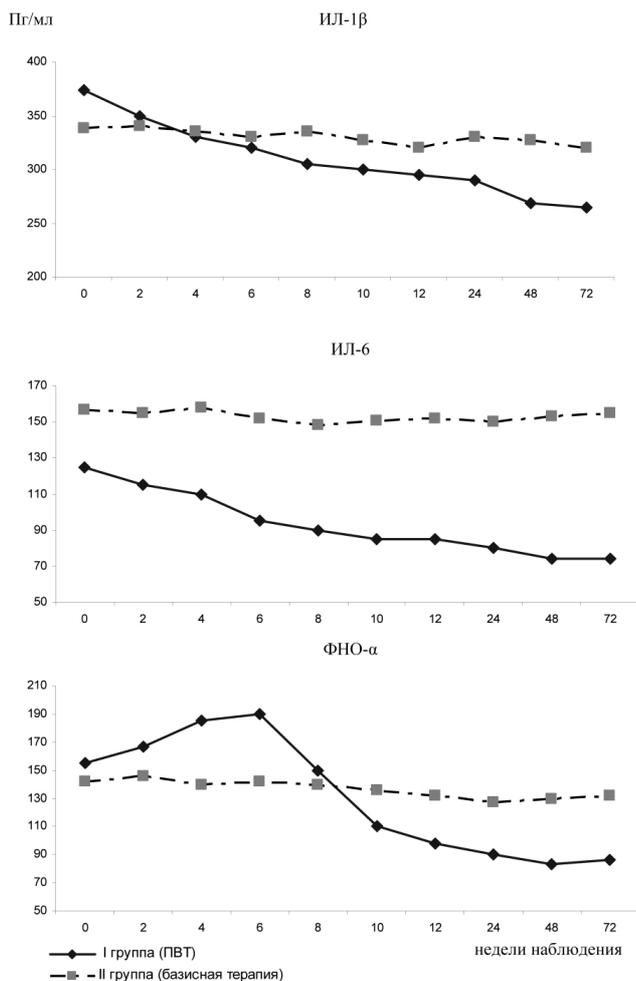


Рис. 1. Динамика показателей ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α у больных I и II групп

рис. 2). Уровень ИЛ-4 у больных сравниваемых групп изменялся незначительно в процессе терапии, и средние значения его были близкими ($130,4 \pm 10,3$ Пг/мл и $158,5 \pm 14,6$ Пг/мл, $p = 0,276$, $139,2 \pm 11,4$ Пг/мл и $147,4 \pm 13,7$ Пг/мл $p = 0,562$).

Закономерности отмеченных различий были подтверждены при дальнейшем анализе показателей активности репликации вирусов и иммунного ответа у больных с разными результатами ПВТ.

Оценивая динамику HCV РНК, можно отметить более быстрое исчезновение РНК вируса у больных с последующим УВО. Так, в этой группе уже через 2 недели от начала ПВТ у 7 из 18 больных (38,9%) наблюдалось исчезновение HCV РНК. На 4-й неделе лечения еще у 7 пациентов были зарегистрированы отрицательные результаты ПЦР. Следует отметить, что у 5 из этих 14 больных был 1b генотип HCV. Тем не менее, ни у кого из них не наблюдался рецидив. У оставшихся 4 больных в эти сроки лечения отмечалось снижение количества вируса более чем на 2 log с последующим исчезновением на 12-й неделе терапии.

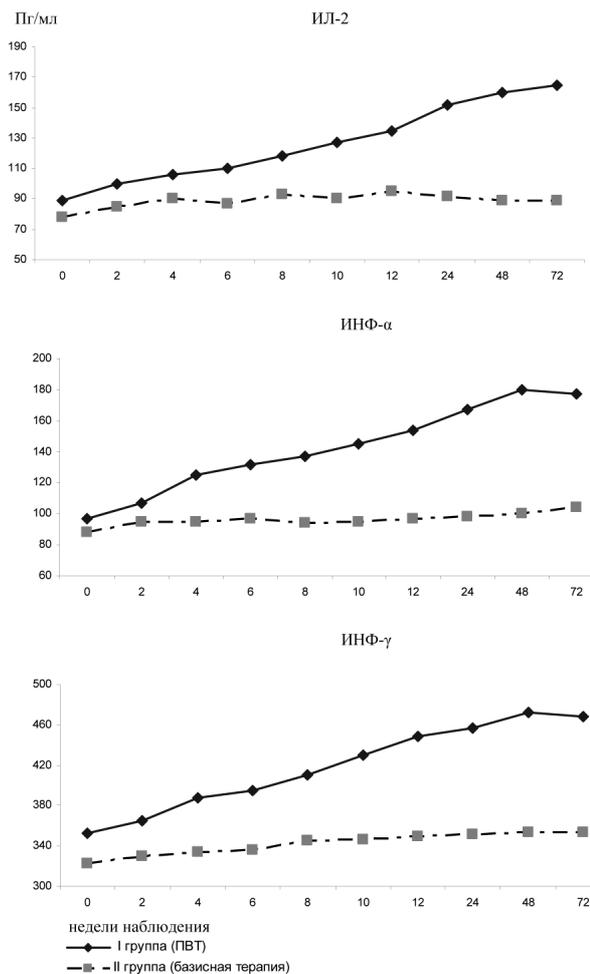


Рис. 2. Динамика показателей ИЛ-2, ИНФ- α , ИНФ- γ у больных I и II групп

С другой стороны, в течение первого месяца у всех больных с отсутствием УВО HCV РНК сохранялась в крови. Более того, снижение концентрации вируса (менее 2 log) на 4-й неделе терапии наблюдалось лишь у 2 из 6 больных. На 12-й неделе ПВТ у большей части больных этой группы (у 5 из 6) HCV РНК продолжала определяться. Транзиторная авиремия на 6-м месяце лечения зарегистрирована у 2 больных. Соответственно, после окончания терапии РНК вируса вновь была обнаружена в крови. Следует отметить, что у всех этих больных был определен генотип вируса 1b.

Также более быстрая динамика исчезновения маркеров активной репликации HBV наблюдалась у больных с развитием УВО после ПВТ. У трети пациентов этой группы (у 5 из 14) зарегистрировано исчезновение HBV ДНК уже на 2-й неделе терапии. Через месяц лечения таких больных было 11 (78,6%). У оставшихся 3 пациентов ДНК вируса перестала определяться на 10–12-й неделе ПВТ. Исчезновение HBsAg наблюдалось через 1–2 недели после регистрации отрицательных результатов ПЦР. Необ-

ходимо отметить, что у всех 12 HBeAg-положительных больных наблюдалась сероконверсия HBeAg/anti-HBe. По окончании терапии у всех больных HBsAg не определялся. Однако появление antiHBs было зарегистрировано лишь у 3 из 14 пациентов.

У больных с отсутствием эффекта от ПВТ исчезновение маркеров активной репликации HBV наблюдалось значительно позже. Так, у 6 из 10 больных отрицательные результаты индикации HBV ДНК и HBeAg наблюдались на 6-м месяце терапии с последующим развитием сероконверсии HBeAg/antiHBe. Тем не менее, HBsAg-емия сохранялась у всех этих пациентов в течение всего срока наблюдения. Еще у 2 больных транзиторная авиремия наблюдалась к моменту окончания ПВТ. Однако у них не появились antiHBe, а после окончания ПВТ были обнаружены вновь маркеры активной репликации HBV в крови.

Следует отметить, что в имеющейся литературе мы не нашли данных о связи раннего исчезновения HBV ДНК и появления сероконверсии HBeAg/antiHBe с эффективностью ПВТ хронического гепатита В. В связи с этим результаты наших исследований, полагаем, заслуживают внимания.

Как видно на рисунке 3, перед началом ПВТ существенных различий в уровне гипераланинаминотрансфераземии у больных сравниваемых групп не наблюдалось ($p=0,218$). Дальнейший анализ показал волнообразную динамику АлАТ у больных с УВО: на 7–8-й неделе ПВТ отмечалось кратковременное повышение уровня АлАТ с последующим снижением через 1–2 недели и нормализацией в течение 3-го месяца терапии. Это характеризовало, как и при интерферонотерапии хронического моногепатита В, так называемый «цитолитический кризис», развитие которого рассматривается как один из благоприятных прогностических признаков эффективности лечения. У больных с отсутствием УВО наблюдалось постепенное снижение гипераланинаминотрансфераземии. В дальнейшем у пациентов с вирусологическим ответом уровень АлАТ оставался стойко нормальным на протяжении всего срока наблюдения, в то время как при отсутствии эффекта от ПВТ уровень АлАТ колебался в процессе лечения от верхней границы нормы до превышающих норму в 4 раза (см. рис. 3).

При обследовании перед началом лечения содержание ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ФНО- α , ИНФ- α , ИНФ- γ было близким у больных с УВО и с развитием рецидива (373,5+26,4 Пг/мл, 102,8+9,5 Пг/мл, 119,6+9,8 Пг/мл, 131,8+11,4 Пг/мл, 124,8+12,7 Пг/мл, 106,5+9,2 Пг/мл, 370,3+29,7 Пг/мл и 360,7+28,2 Пг/мл, 83,7+10,5 Пг/мл, 126,4+11,7 Пг/мл, 116,8+10,2 Пг/мл, 117,3+11,8 Пг/мл, 93,7+9,5 Пг/мл, 339,2+25,6 Пг/мл соответственно, $p=0,618$, $p=0,462$, $p=0,513$, $p=0,426$, $p=0,602$, $p=0,582$, $p=0,415$). Наиболее выраженные изменения наблюдались в содержании ИНФ- α ,

ИНФ- γ , ФНО- α : у пациентов с развитием УВО зарегистрировано достоверное повышение ИНФ- α , ИНФ- γ уже на 4-й неделе ПВТ, тогда как при отсутствии эффекта от ПВТ наблюдалась лишь тенденция к увеличению уровня этих цитокинов (рис. 4).

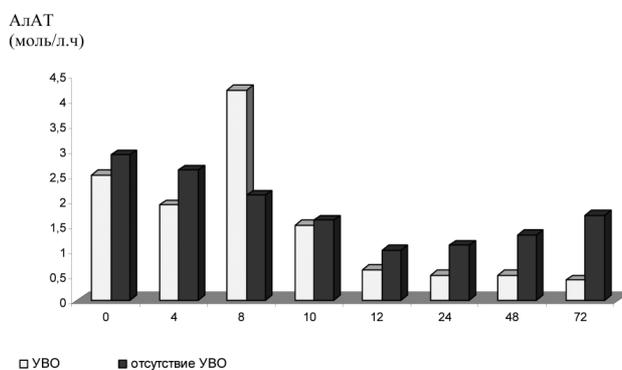


Рис. 3. Динамика уровня АлАТ у больных с разными результатами противовирусной терапии

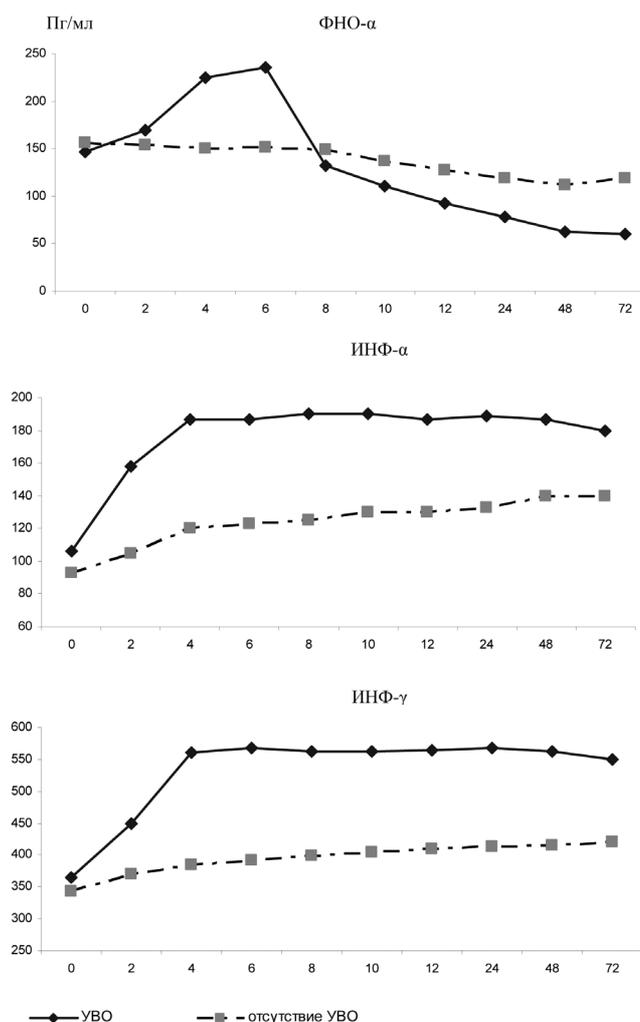


Рис. 4. Динамика показателей ФНО- α , ИНФ- α , ИНФ- γ у больных с разными результатами противовирусной терапии

Динамика содержания ФНО- α у пациентов с вирусологическим ответом характеризовалась достоверным повышением уровня данного цитокина (в 1,5 раза и более) на 4–5-й неделе ПВТ с последующим снижением до исходного уровня или даже ниже на 6–8-й неделе терапии, тогда как у больных с последующим рецидивом наблюдалось лишь постепенное незначительное снижение ФНО- α (см. рис. 4). Более того, в группе больных с вирусологическим ответом между уровнем АЛТ и ФНО- α установлена прямая корреляция умеренной интенсивности ($r=0,36$).

Изменения в содержании ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6 у пациентов с разными результатами ПВТ мало отличались между собой и были менее информативными.

Известно, что провоспалительные цитокины ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α являются не только активаторами Th1-эффекторного звена иммунитета, но и показателями выраженности морфологических изменений в печени [5, 12]. Так, у больных при проведении ПВТ отмечалось более существенное снижение уровня этих цитокинов сравнительно с пациентами, получавшими только базисную терапию, что является результатом антифибротического действия α -интерферона и рибавирина, что связано с подавлением профибротической активности печеночных звездчатых клеток, снижением синтеза трансформирующего фактора роста, а также уменьшением продукции тканевых ингибиторов металлопротеиназ клетками фагоцитарно-макрофагальной системы [13, 14].

Значительное повышение уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-2, ИНФ- α и ИНФ- γ по окончании ПВТ по сравнению с исходными значениями до лечения можно объяснить иммунорегулирующим действием ПЭГ-ИНФ-а, вызывающего усиление экспрессии молекул HLA I класса, активацию Th1-лимфоцитов, естественных киллеров, макрофагов [5]. Кроме того, рибавирин, применяемый в комбинированной терапии при высокой репликативной активности HCV, наряду с противовирусным действием, обладает выраженной иммунологической активностью посредством усиления продукции ИЛ-2, ИНФ- γ , ИЛ-12, подавления выработки ИЛ-1 β , противовоспалительных цитокинов ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10 и переключения дифференцировки Т-клеток в направлении Th1-лимфоцитов [5, 15]. Достоверное увеличение ИНФ- α и ИНФ- γ у больных с УВО уже через 4 недели от начала ПВТ характеризовало более высокий эффекторный потенциал Th1-лимфоцитов, чем у больных с последующим рецидивом.

Кратковременное значительное повышение уровня ФНО- α на ранних сроках лечения (4–5-я неделя), вероятно, может быть расценено как предвестник «цитолитического кризиса», являю-

щегося одним из предикторов эффективности интерферонотерапии хронического гепатита В.

Таким образом, в процессе ПВТ у больных хроническим сочетанным гепатитом В+С с высокой репликативной активностью HBV и HCV наблюдается снижение содержания ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α , что подтверждало антифибротическое действие ПЭГ-ИНФ-а и рибавирина и характеризовало уменьшение некровоспалительных процессов в печени. Применение противовирусной терапии способствовало усилению продукции ИЛ-2, ИНФ- α и ИНФ- γ , характеризующих активизацию Th1-эффекторного звена иммунитета. Достоверное повышение уровня ИНФ- α и ИНФ- γ к окончанию первого месяца ПВТ может служить дополнительным ранним критерием прогнозирования стабильной ремиссии у HCV РНК-позитивных и HBV ДНК-позитивных больных. При наличии ХГВ с высокой репликативной активностью в структуре сочетанной инфекции дополнительным прогностическим критерием эффективности следует считать повышение содержания ФНО- α в 1,5 раза и более на 4–5-й неделе с последующим снижением до исходного уровня или ниже на 6–8-й неделе лечения.

Литература

1. Сюткин, В.Е. Сочетанная инфекция гепатотропными вирусами / В.Е. Сюткин // РМЖ. — 2004. — № 2. — С. 52–57.
2. Liu, C.J. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for treatment of dual chronic infection with hepatitis B and C viruses / C.J. Liu [et al.] // Gastroenterology. — 2009. — № 136(2). — P. 496–504.
3. Бакулин, И.Г. Актуальные вопросы противовирусной терапии хронических гепатитов В и С / И.Г. Бакулин // Эксперим. и клинич. гастроэнтерология. — 2010. — № 5. — С. 3–9.
4. Блюм, Х.Е. Гепатит С: современное состояние проблемы / Х.Е. Блюм // Росс. журн. гастроэнтер., гепатол., колопрот. — 2005. — № 1. — С. 20–25.
5. Семеновко, Т.А. Иммунологические показатели эффективности лечения хронического гепатита С / Т.А. Семеновко // Информ. бюллетень Вирусные гепатиты. — 2005. — № 1(20). — С. 3–9.
6. Жданов, К.В. Перспективы комбинированной терапии хронического гепатита В / К.В. Жданов // Клинич. гастроэнтер. и гепатол. — 2009. — № 2(5). — С. 330–334.
7. Никитин, И.Г. Рекомендации по диагностике и подходу к лечению хронического гепатита В / И.Г. Никитин // Гастроэнтерология, гепатология. — 2008. — № 2(156). — С. 5–12.
8. Harry, L.A. Pegylated interferon alfa-2b alone or in combination with lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B: a randomized trial / L.A. Harry [et al.] // Lancet Jan. — 2005. — № 365. — P. 123–129.
9. Жданов, К.В. Клиника, диагностика и лечение латентных форм вирусных гепатитов В и С / К.В. Жданов [и др.] // TERRA MEDICA nova 2004. — http://www.terramedica.spb.ru/3_2004/zhdanov.htm.
10. Кельцев, В.А. Особенности цитокиновой регуляции при хронических вирусных гепатитах у детей / В.А. Кель-

цев, О.В. Чурбакова // Известия Самарского научного центра РАН. — 2010. — Т. 12. — № 1(7). — С. 1683–1686.

11. Соболевская, О.Л. Клиническое значение Т-клеточной реакции лимфоцитов на антигены вирусов гепатита В и С и уровня цитокинов при противовирусной терапии больных гепатитом С и микст-инфекцией (В+С) / О.Л. Соболевская, О.В. Корочкина // Клиническая медицина. — 2007. — № 7. — С. 63–66.

12. Собчак, Д.М. Показатели иммунитета у больных хроническим гепатитом С при различной гистологической активности / Д.М. Собчак, Э.А. Монакова // Клиническая медицина. — 2004. — № 4. — С. 49–52.

13. Учайкин, В.Ф. Влияние терапии рекомбинантным интерфероном альфа-2b на динамику фиброобразования печени при хронических вирусных гепатитах у детей / В.Ф. Учайкин [и др.] // Детские инфекции. — 2008. — № 2. — С. 49–54.

14. Курышева, М.А. Фиброз печени: прошлое, настоящее и будущее / М.А. Курышева // РМЖ. — 2010. — № 23. — С. 3–6.

15. Shiina, M. Ribavirin upregulates interleukin-12 receptor and induces T cell differentiation towards type 1 in chronic hepatitis C. / M. Shiina [et al.] // J. Gastroenterol. Hepatol. — 2004. — № 19(5). — P. 558–564.

Автор:

Соболевская Оксана Львовна — доцент кафедры инфекционных болезней ГОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия», к.м.н., тел. +7-910-396-91-37, e-mail — vad5584@yandex.ru.