

## КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА А В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЕГО ГЕНОТИПА И ТИПА ИММУННОГО ОТВЕТА ОРГАНИЗМА

Проф. В. П. МАЛЫЙ, В. В. БОЙКО, доц. Т. И. ЛЯДОВА

*Харьковская медицинская академия последипломного образования,  
Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина*

**Изучена динамика синтеза основных регуляторных цитокинов у пациентов с вирусным гепатитом в зависимости от установленного генотипа вируса. Полученные результаты исследований позволяют рекомендовать комплексное обследование больных гепатитом А с определением маркеров активной репликации вирусной рибонуклеиновой кислоты, а также уровня основных регуляторных цитокинов.**

*Ключевые слова: гепатит А, генотип, регуляторные цитокины, типы иммунного реагирования.*

Молекулярно-генетические методы типирования вирусных гепатитов (ВГ) составляют основу молекулярной эпидемиологии ВГ, имеющей целью изучение циркуляции отдельных генетических вариантов возбудителей и их причинной связи с возникновением, распространением и течением инфекционного заболевания. При помощи современных методов исследований в области вирусологии и инфекционных болезней доказана гетерогенность популяций ВГ, которая обусловлена значительной генетической вариабельностью изолятов. Основываясь на проценте гомологии между нуклеотидными последовательностями геномов, вирусы гепатитов внутри родов подразделяют на генотипы, субтипы, изоляты и квазивиды в зависимости от особенностей каждого возбудителя.

По данным ВОЗ, ежегодно в мире регистрируется более 1,4 млн. случаев острого гепатита А (ГА). В действительности заболеваемость ГА превышает эти показатели более чем в 10 раз, поскольку чаще всего заболевание не диагностируется и остается незарегистрированным (безжелтушные и бессимптомные формы), что связано с особенностями течения данной инфекционной патологии. Проводимые генно-диагностические исследования ГА в различных регионах земного шара показывают неодинаковый «генетический пейзаж» возбудителя, который влияет на различия в тяжести течения заболевания, исходах, осложнениях, интенсивности противоинфекционного иммунитета. Изоляты вирусного ГА (HAV) подразделяют на 7 генотипов, которые обозначаются римскими цифрами [1–3]. Генотипы вируса ГА I, II, III и VII вызывают заболевания у человека, а генотипы IV, V, VI – у обезьян. Отличия между изолятами HAV, выделенными в различных регионах мира по нуклеотидной последовательности геномной рибонуклеиновой кислоты (РНК), составляют 15–25% и 7,5% на уровне генотипов и субтипов соответственно. При этом аминокислотные последовательности изолятов HAV достаточно консервативны,

что объясняется наличием всего одного серотипа ГА. По данным Rezende G. [цит. по 4], наиболее тяжелое течение заболевания отмечается у лиц с генотипом IB, IIIA, тогда как среднетяжелые формы наблюдаются при IA-генотипе.

Характер иммунного ответа организма на внедрившийся антиген зависит от доминирующего участия клонов Т-лимфоцитов-хелперов (Th) 1-го или 2-го типа, которые различаются продукцией цитокинов, и участием в стимуляции развития иммунного ответа по клеточному или гуморальному типу [5–7].

Исследованиями установлено, что особенности иммунного реагирования организма при ВГ имеют прямую зависимость от сбалансированности цепей цитокинового спектра. Нарушение баланса продукции цитокинов Th1/Th2 клетками играет важную роль в иммунопатогенезе ГА.

Несмотря на значительные достижения в области иммунологии и инфектологии, большинство вопросов о характере цитокинпродуцирующей способности иммунокомпетентных клеток и их иммунопатогенетических особенностях у больных ГА остаются невыясненными [8–10].

Целью нашего исследования явилось изучение клинических особенностей течения ГА в зависимости от установленных генотипов вируса и продукции основных регуляторных цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-4).

Нами систематизированы основные клинико-биохимические проявления HAV-инфекции, изучена динамика синтеза продуцируемых цитокинов в зависимости от тяжести течения заболевания и установленного генотипа вируса.

Под нашим наблюдением находился 141 больной вирусным ГА. Диагноз ГА устанавливался на основании комплекса клинико-anamnestических, эпидемиологических, лабораторно-инструментальных и биохимических данных и подтверждался верификацией специфических серологических маркеров в сыворотке крови (анти-HAV IgM)

методом иммуноферментного анализа (ИФА) (ELISA) и РНК HAV методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Генотипирование вируса ГА проводилось с использованием рестрикционного анализа по методу M. Mizokami с соавт. [11] в модификации ЦНИИЭ г. Москвы.

Для исключения ВГ другой этиологии всем больным проводили обследование на наличие HBsAg, анти-HBcAg, анти-HCV методом ИФА.

Форму тяжести заболевания оценивали на основании общепринятых критериев с учетом степени выраженности интоксикационного синдрома, интенсивности желтухи, уровня билирубина и АЛТ.

Материалом для исследования была сыворотка крови больных ГА в разные периоды заболевания (разгара и реконвалесценции).

Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц в возрасте от 18 до 35 лет.

Выявление и обследование больных ГА проводилось в различных областях Украины.

Анализ полученных данных генотипирования вируса ГА у больных с разным течением заболевания позволил выявить циркуляцию двух генотипов HAV. В 75% случаев (105 больных) встречался генотип 1А вируса ГА, тогда как частота выявления генотипа 3А была гораздо меньшей и составила 25% (36 больных). Удельный вес разных генотипов ГА зависел от региона Украины (рис. 1). Следует отметить, что в Закарпатской, Полтавской и Николаевской областях среди спорадических случаев ГА был выявлен только доминирующий генотип 1А.

При изучении тяжести течения ГА была установлена зависимость от выявленного генотипа: у лиц с 3А-генотипом отмечалось более тяжелое течение болезни по сравнению с больными с генотипом 1А (рис. 2).

У пациентов с установленным генотипом 1А HAV заболевание протекало циклически с различной степенью тяжести, кроме тяжелых форм, однако преобладали легкие формы — 61% (64 больных) против 39% (41 больной), тогда как у больных с генотипом 3А регистрировался больший процент среднетяжелых форм — 58% (21 больной) против 42% (15 больных), ( $p < 0,05$ ).

Проводилось изучение динамики провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в зависимости от генотипа HAV. При анализе полученных показателей нами были выявлены определенные различия в продукции изучаемых цитокинов (табл. 1).

Так, при легком течении ГА у пациентов с 1А-генотипом HAV отмечалось увеличение уровня ФНО- $\alpha$  до  $60,24 \pm 5,5$  пкг/мл, что превышало показатель контрольной группы в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ). При среднетяжелом течении —  $90,60 \pm 6,2$  пкг/мл, что превышало контрольные значения в 2,4 раза ( $p < 0,05$ ). Аналогичная тенденция наблюдалась в группе больных с 3А-генотипом HAV, значения показателей которых превышали контрольные в 3 раза при легком и в 3,5 раза при среднетяжелом

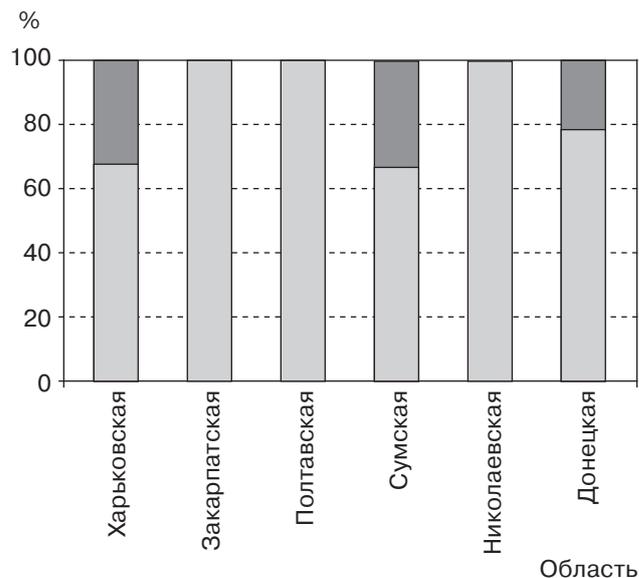


Рис. 1. Удельный вес генотипов ГА в различных областях Украины: □ — 1А-генотип; ■ — 3А-генотип

течении заболевания. Наряду с этим отмечались достоверные отличия среди уровней ФНО- $\alpha$  у пациентов с различным течением болезни при 3А-генотипе —  $110,21 \pm 7,6$  пкг/мл при легком течении против  $135,83 \pm 8,4$  пкг/мл при среднетяжелом течении ( $p < 0,05$ ), и среди групп больных с различным течением ГА при разных генотипах. Так, при 3А-генотипе наблюдалось достоверно более высокое повышение уровней ФНО- $\alpha$  по сравнению с аналогичными показателями в группах с 1А-генотипом HAV как при легком, так и при среднетяжелом течении заболевания ( $p < 0,05$ ). Полученные данные подтверждают более тяжелое течение заболевания и выраженность иммунного ответа у пациентов с 3А-генотипом.

Изучение динамики противовоспалительного цитокина ИЛ-4 позволило выявить достоверные отличия в изучаемых группах у пациентов с различным течением заболевания как при 1А-, так и при 3А-генотипе HAV по сравнению с показателями контрольной группы ( $p < 0,05$ ). Однако в пределах одного генотипа HAV среди групп больных с различным течением болезни уровни ИЛ-4 не отличались статистической достоверностью ( $p > 0,05$ ). При изучении динамики ИЛ-4 у больных с различным течением болезни между генотипами HAV нами были выявлены достоверные отличия.

При легком течении 1А-генотипа HAV сывороточная концентрация ИЛ-4 составляла  $47,73 \pm 4,7$  пкг/мл против  $62,99 \pm 5,8$  пкг/мл при 3А-генотипе HAV ( $p < 0,05$ ). При среднетяжелом течении уровни ИЛ-4 при 1А-генотипе составили  $54,07 \pm 3,8$  пкг/мл, тогда как у больных этой же группы с 3А-генотипом —  $66,94 \pm 6,5$  пкг/мл ( $p < 0,05$ ). Полученные данные динамики ИЛ-4 также свидетельствуют о более выраженном иммунном ответе у пациентов с 3А-генотипом HAV.

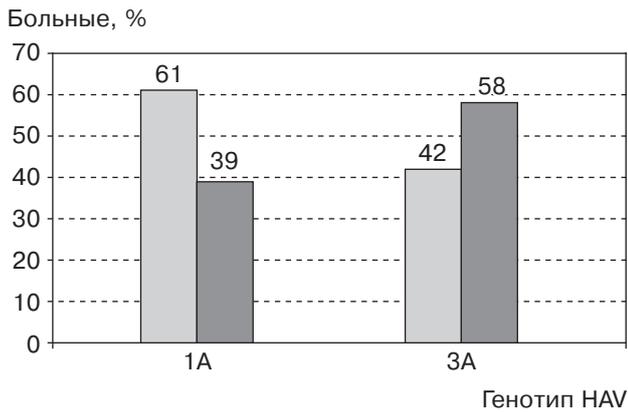


Рис. 2. Тяжесть течения ГА в зависимости от генотипа НАV: □ — легкое течение ГА ( $n = 105$ ); ■ — среднетяжелое течение ГА ( $n = 36$ )

Подобная динамика отмечена и при изучении уровней регуляторного ИЛ-2. При 1А-генотипе у больных с легким и среднетяжелым течением ГА уровни ИЛ-2 превышали контроль в 1,4 и 1,5 раза, тогда как при 3А — в 1,5 и 1,6 раза ( $p < 0,05$ ). В пределах одного генотипа НАV среди групп больных с различным течением болезни уровни ИЛ-2, также как и ИЛ-4, не отличались статистической достоверностью ( $p > 0,05$ ). При 1А-генотипе НАV у больных с легким течением уровень ИЛ-4 составлял  $52,91 \pm 4,1$  пкг/мл против  $62,99 \pm 5,8$  пкг/мл при 3А-генотипе ( $p < 0,05$ ); при среднетяжелом течении —  $54,07 \pm 3,8$  пкг/мл против  $66,94 \pm 6,5$  пкг/мл ( $p < 0,05$ ).

Анализируя полученные данные динамики изучаемых провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в остром периоде болезни, можно сделать вывод, что у пациентов с 3А-генотипом НАV активация иммунных механизмов выражена сильнее, это проявляется в более высоких уровнях накопления основных регуляторных цитокинов и более тяжелом течении заболевания по сравнению с пациентами с 1А-генотипом.

При изучении цитокинового профиля в периоде реконвалесценции (табл. 2) установлено, что уровень ФНО- $\alpha$  у лиц с генотипом 1А имел тенденцию к снижению и не отличался достоверно от показателей контрольной группы ( $p > 0,05$ ), с 3А-генотипом отличия были статистически достоверными:  $43,24 \pm 3,6$  пкг/мл против  $55,81 \pm 4,1$  пкг/мл ( $p < 0,05$ ).

Динамика уровней ИЛ-4 также имела тенденцию к снижению показателей до уровня контрольных значений при 1А-генотипе. Но при 3А-генотипе НАV изучаемые уровни достоверно превышали таковые в контрольной группе в 1,3 и 1,4 раза ( $p < 0,05$ ). Кроме того, достоверные отличия ( $p < 0,05$ ) в периоде реконвалесценции были выявлены между генотипами 1А и 3А как при легком ( $19,53 \pm 1,4$  и  $24,19 \pm 1,8$  пкг/мл), так и при среднетяжелом течении ( $21,45 \pm 1,8$  и  $26,14 \pm 2,1$  пкг/мл).

Аналогичная картина имела место и при изучении уровней ИЛ-2. Они снижались до показателей контрольных значений при 1А-генотипе, тогда как при 3А-генотипе в 1,3 и 1,4 раза ( $p < 0,05$ ) превышали таковые в контрольной группе. Также

Таблица 1

**Показатели уровней цитокинов в разгаре заболевания у больных с различным течением и генотипами НАV**

Показатель (пкг/мл)	Генотип 1А НАV		Генотип 3А НАV		Контроль, $n = 20$
	Легкое течение, $n = 64$	Среднетяжелое течение, $n = 41$	Легкое течение, $n = 15$	Среднетяжелое течение, $n = 21$	
ФНО- $\alpha$	$60,24 \pm 5,5$ <sup>1,2,3</sup>	$90,60 \pm 6,2$ <sup>1,2,3</sup>	$110,21 \pm 7,6$ <sup>1,2,3</sup>	$135,83 \pm 8,4$ <sup>1,2,3</sup>	$37,83 \pm 2,7$
ИЛ-4	$47,73 \pm 4,7$ <sup>1,3</sup>	$54,07 \pm 3,8$ <sup>1,3</sup>	$62,99 \pm 5,8$ <sup>1,3</sup>	$66,94 \pm 6,5$ <sup>1,3</sup>	$18,73 \pm 1,5$
ИЛ-2	$52,91 \pm 4,1$ <sup>1,3</sup>	$57,70 \pm 4,4$ <sup>1,3</sup>	$59,41 \pm 4,2$ <sup>1,3</sup>	$62,56 \pm 4,8$ <sup>1,3</sup>	$38,26 \pm 2,9$

Примечание. Здесь и в табл. 2  $p < 0,05$ : <sup>1</sup> — между показателями в изучаемых группах и контролем; <sup>2</sup> — между показателями групп больных с различным течением заболевания при одном из генотипов; <sup>3</sup> — между показателями групп больных при разных генотипах.

Таблица 2

**Показатели уровней цитокинов в периоде реконвалесценции у больных с различным течением и генотипами НАV**

Показатель (пкг/мл)	Генотип 1А НАV		Генотип 3А НАV		Контроль, $n = 20$
	Легкое течение, $n = 64$	Среднетяжелое течение, $n = 41$	Легкое течение, $n = 15$	Среднетяжелое течение, $n = 21$	
ФНО- $\alpha$	$41,21 \pm 3,5$	$44,61 \pm 3,2$ <sup>3</sup>	$43,24 \pm 3,6$ <sup>3</sup>	$55,81 \pm 4,1$ <sup>1,2,3</sup>	$37,83 \pm 2,7$
ИЛ-4	$19,53 \pm 1,4$ <sup>3</sup>	$21,45 \pm 1,8$ <sup>3</sup>	$24,19 \pm 1,8$ <sup>1,3</sup>	$26,14 \pm 2,1$ <sup>1,3</sup>	$18,73 \pm 1,5$
ИЛ-2	$38,97 \pm 2,1$ <sup>3</sup>	$41,17 \pm 2,5$ <sup>3</sup>	$49,41 \pm 3,1$ <sup>1,3</sup>	$52,56 \pm 3,6$ <sup>1,3</sup>	$38,26 \pm 2,9$

достоверные различия в данном периоде были выявлены между уровнями ИЛ-2 у пациентов с легким и средним течением ГА и генотипами возбудителя. Так, при легком течении 1А-генотипа уровень ИЛ-2 составил  $38,97 \pm 2,1$  пкг/мл, при 3А-генотипе —  $49,41 \pm 3,1$  пкг/мл ( $p < 0,05$ ). При среднетяжелом течении эти уровни также отличались достоверностью —  $41,17 \pm 2,5$  и  $52,56 \pm 3,6$  пкг/мл ( $p < 0,05$ ).

Выявленные достоверные отличия в динамике уровней основных регуляторных цитокинов у больных с 3А-генотипом коррелируют с тяжестью течения заболевания и косвенно свидетельствуют о более выраженной активации иммунитета в периоде разгара ГА (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-4 и ИЛ-2) по сравнению с 1А-генотипом HAV.

Таким образом, проведенное генотипирование HAV у больных на территории нескольких

областей Украины позволило выявить циркуляцию двух генотипов — 1А и 3А, среди которых генотип 1А является доминирующим, поскольку частота его идентификации составила 75%.

Клинически у пациентов с 3А-генотипом заболевание протекает в более тяжелой форме, чем у больных с генотипом 1А.

Изучение динамики инфекционного процесса позволило установить однотипную направленность иммунного ответа, который коррелирует со степенью тяжести заболевания и установленным генотипом вируса.

Определение генотипа HAV имеет клинико-эпидемиологическое значение, а изучение цитокинов в динамике демонстрирует клинико-иммунологические механизмы иммунопатогенеза заболевания.

#### Литература

1. Михайлов М. И., Шахгильдян И. В., Онищенко Г. Г. Энтеральные вирусные гепатиты.— М.: ВУМНЦ Росздрава, 2007.— С. 56–60.
2. Мукомолов С. Л., Калинина О. В. Молекулярная эпидемиология вирусных гепатитов: Пособие для врачей.— СПб.: Фолиант, 2003.— 24 с.
3. Филогенетическая структура популяции вируса гепатита А в России / А. Д. Неверов, И. В. Карандашова, В. П. Чулинов и др. // Сб. трудов 6-ой Всероссийской научно-практич. конф. (Москва, 28–30 ноября 2007 г.).— М.: ИТАР, 2007.— С. 318–319.
4. Acute renal failure complicating nonfulminant hepatitis A in HLA-B27 positive patient / N. Brncic, D. Matic-Glazar, I. Viskovic et al. // Renal Failure.— 2000.— Vol. 22, № 5.— P. 635–640.
5. Ройт А. Основы иммунологии: Пер. с англ.— М.: Мир, 1991.— 328 с.
6. Хаитов Р. М., Пинегин Б. В. Современные пред-
- ставления о защите организма от инфекции // Иммунология.— 2000.— № 1.— С. 61–64.
7. Царегородцева Т. М., Серова Т. И. Цитокины в гастроэнтерологии.— М.: Анахарсис, 2003.— С. 50.
8. Ching K. Z., Nakano T., Chapman L. E. Genetic characterization of wild-type genotype 7 hepatitis A virus // J. Gen. Virol.— 2002.— Vol. 83.— P. 53–60.
9. Evidence of recombination in natural populations of hepatitis A virus / M. Costa-Mattioli, V. Ferre, D. Casane et al. // Virology.— 2003.— Vol. 311.— P. 51–59.
10. Cloning and characterization of partial c DNAs for woodchuck cytokines and CD3epsilon with applications for the detection of RNA expression in issues by RT-PCR assay / I. Nakamura, J-T. Nupp, B. S. Ray et al. // J. Med. Viros.— 2001.— Vol. 53.— P. 85–95.
11. Mizokami M., Orito E. Molecular evolution of hepatitis viruses // Intervirology.— 1999.— Vol. 4 (2).— P. 159–165.

### КЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ВІРУСНОГО ГЕПАТИТУ А ЗАЛЕЖНО ВІД ЙОГО ГЕНОТИПУ ТА ТИПУ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ ОРГАНІЗМУ

В. П. МАЛИЙ, В. В. БОЙКО, Т. І. ЛЯДОВА

**Вивчено динаміку синтезу основних регуляторних цитокинів у пацієнтів з вірусним гепатитом залежно від встановленого генотипу вірусу. Одержані результати досліджень дозволяють рекомендувати комплексне обстеження хворих на гепатит А з визначенням маркерів активної реплікації вірусної рибонуклеїнової кислоти, а також рівня основних регуляторних цитокинів.**

*Ключові слова:* гепатит А, генотип, регуляторні цитокини, типи імунного реагування.

### CLINICAL PECULIARITIES OF THE COURSE OF VIRAL HEPATITIS A DEPENDING ON ITS GENOTYPE AND THE TYPE OF THE ORGANISM IMMUNE RESPONSE

V. P. MALYI, V. V. BOYKO, T. I. LIADOVA

**Investigation of the dynamics of synthesis of main regulatory cytokines in patients with viral hepatitis depending on the virus genotype was investigated. The obtained findings allowed to recommend complex investigation of the patients with hepatitis A with determining the markers of active replication of viral ribonucleic acid as well as the level of main regulatory cytokines.**

*Key words:* hepatitis A, genotype, regulatory cytokines, immune response types.

Поступила 01.12.2010