

ОСОБЛИВОСТІ ГУМОРАЛЬНОЇ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ ДО НЕСТРУКТУРНИХ ВІРУСНИХ ПРОТЕЇНІВ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ГЕНОТИПУ ВІРУСУ, РІВНЯ ВІРЕМІЇ ТА ПРОТИВІРУСНОЇ ТЕРАПІЇ

Ж.Б. Клименко

Резюме. Проаналізовані та визначені особливості гуморальної імунної відповіді у хворих на хронічний гепатит С. Отримані дані свідчать про досить високу гуморальну відповідь на неструктурні вірусні білки до *core* антигену, анти-NS3, анти- NS4, які після отримання хворими противірусної терапії мають незначну тенденцію до зниження, в той час як частота зниження IgM та анти-NS5 більш виражена.

Ключові слова: гуморальна імунна відповідь, неструктурні вірусні білки, хронічний гепатит С.

Актуальність вивчення проблеми вірусних захворювань печінки обумовлена їх широкою поширеністю, ростом інфікованих осіб молодого віку, хронізацією, прогресивним перебігом, тяжкими ускладненнями, інвалідизацією. Досягнення сучасної вірусології, гематології, генетики, біотехнології відкривають нові перспективи для удосконалення діагностики, оптимізації лікування та профілактики вірусних вражень печінки [1, 2, 3].

Гепатотропні віруси (В,С,Д,Г) мають ряд біологічних властивостей, які ускладнюють їх ерадикацію. Персистуючи в організмі багато років, інколи все життя, перш за все в клітинах печінки, віруси здатні до реактивації при порушенні імунного гомеостазу. При інфікуванні вірусом гепатиту С (НСV) в організмі виробляється антитіла (Ig) до різних антигенних структур вірусу, частково до білків серцевини (*core*) та неструктурних білків НCV. Останні виконують функції ферментів і приймають участь у формуванні нових, дочірніх РНК вірусу. Антитіла при гепатиті С відносяться до імуноглобулінів різних класів (М,Г), визначаються з різною частотою і в різній кількості, мають різні біологічні властивості. Можна вважати, що захисні функції в більшій мірі властиві вірусспецифічним антитілам IgG [4, 5]. Звертає на себе увагу той факт, що у хворих на ХГС в достатньо високому відсотку випадків визначаються маркери реплікації, що свідчить про активне розмноження вірусу. Недостатня елімінація вірусу гепатиту С, вірогідно, пов'язана з його багаторазовою мінливістю, в результаті чого утворюється багато близьких, але імунологічно різних антигенних структур. Антитіла, що синтезуються в організмі, які нейтралізують віруси, володіють високою специфічністю. Вони

інактивують раніше діючі на імунну систему антигени, але не здатні нейтралізувати знов і знов утворюючі антигенні «квазиваріанти» вірусу, що дозволяє йому уникати імунного контролю [6, 7]. Висока швидкість мутації вірусу призводить до постійної напруженості імунної системи. Імунна відповідь губить свою направленість, ніби «розмивається», що знижує його захисну активність, ускладнює повну ерадикацію вірусу і не захищає від повторного інфікування іншими генотипами або мутантними формами HCV [8]. В моєму повідомленні представлені результати вивчення при ХГС частоти визначення та реактивності антитіл IgM та IgG до антигенів структурних білків (сoг) та неструктурних білків (NS) HCV. Особлива увага приділена вивченню співвідношення вірусспецифічних антитіл з вірусологічними показниками, їх діагностичної і прогностичної значимості, а також впливу протівірусної терапії (ПВТ) на їх реактивність.

Мета дослідження: вивчення спектру антитіл при ХГС, направлених до різних антигенних структур вірусу гепатиту С (HCV), їх залежність від генотипу, рівня віремії та динаміка їх вмісту в процесі ПВТ.

Матеріали та методи

Було обстежено 212 хворих на ХГС (121 чоловік та 91 жінка) віком від 20 до 63 років, середній вік склав 37 років; тривалість хвороби визначалась від 1 до 15 років. 1 генотип був виявлений у 144 осіб (67,9%), 3 генотип – у 68 хворих (32,1%). Всі хворі на ХГС (n = 212 осіб) були розподілені на 2 групи в залежності від рівня вірусологічного навантаження. До першої групи з високим вірусним навантаженням (>400 тис.МО) увійшло 118 осіб (55,7%), до другої групи з низьким вірусним навантаженням (<400 тис. МО) – 94 (44,3%). Діагноз підтверджувався даними клінічних, морфологічних, біохімічних, серологічних та вірусологічних досліджень. Вірусспецифічні антитіла у сироватці крові визначали ІФА методом з використанням тест-систем третьої генерації для диференційного виявлення антитіл до антигенів вірусу гепатиту С Вітро-тест (анти-HCV – Differens, Київ, Україна). Для визначення IgM використовували імуноферментні тест-системи Ricombi Best – анти-HCV IgM (Вектор, Росія). Методики дозволяють ідентифікувати специфічні анти-HCV IgG до індивідуальних вірусних протеїнів (ІВП): структурного (сoг-протеїну) та неструктурних вірусних білків (НВБ) – NS3, NS4, NS5. Сироватку, яка реагує з двома та більше білками, що кодуються різними генами HCV, вважали анти-HCV позитивною. У випадках наявності реактивності до одного чи двох білків, що кодуються одним геном, результат розглядали як невизначений. Реактивність сироваток до кожного ІВП визначалась по коефіцієнту позитивності (R) – це відношення оптичної щільності зразка до критичної оптичної щільності. При $R > 1$ сироватку вважали позитивною,

при $R < 1$ – негативною. РНК-НСV в клінічному матеріалі визначали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з гібридаційно – флуоресцентною детекцією в режимі реального часу (Амплісенс – НCV FL ФДУН НДІ Епідросспоживнагляду).

Результати дослідження та їх обговорення

При вивченні спектру антитіл IgG у сироватці крові 212 хворих на ХГС анти- IgG до соg-Ang були виявлені в 100% випадків, їх реактивність сироваток (р.с.) склала $13,7 \pm 5,3$; IgG до НCV NS3 в 91%, (р.с.) – $16,8 \pm 6,1$; IgG до НCV NS4 – у 88,2% (р.с. $15,7 \pm 5,7$); IgG до НCV NS5 – 82,5% (р.с. $16,4 \pm 6,2$). Таким чином, анти-IgG до антигенних структур НCV визначались при ХГС у великому відсотку випадків і високій реактивності сироваток крові (рис. 1).

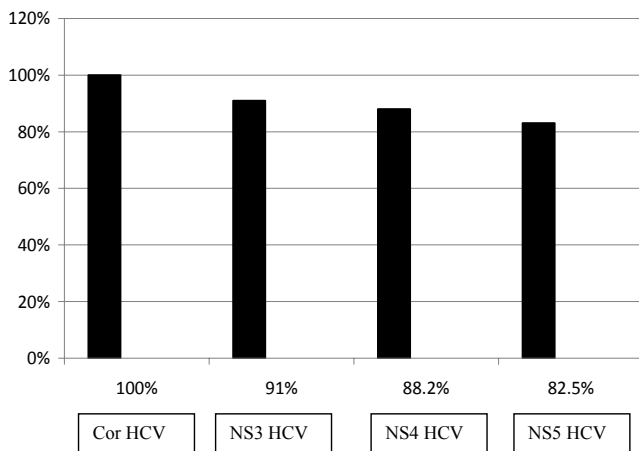


Рис. 1. Спектр антитіл IgG у хворих на ХГС (n=212).

Частота визначення анти – IgM до НCV у хворих на ХГС склала 36%, (оптична щільність – $3,36 \pm 3,2$ од.ОЩ) і була суттєво нижчою, ніж IgG НCV. Цей маркер поряд з РНК – НCV є показником активності інфекційного процесу. При високому вірусному навантаженні повний блот IgG був виявлений у 90 хворих (76,3%), неповний – у 28 (23,7%). У хворих на ХГС з низьким вірусним навантаженням повний блот спостерігався у 62 (65,9%), неповний – у 32 (34,1%). Достовірних величин отримано не було, але відмічається тенденція до збільшення відсотку пацієнтів з неповним блотом (тобто відсутністю одного чи двох неструктурних вірусних білків) у хворих на ХГС з низьким вірусним навантаженням, що відповідає

світовим літературним джерелам про чітку кореляцію гуморальної імунної відповіді до неструктурних вірусних протеїнів з рівнем РНК – HCV. Залежність рівня вірусного навантаження від генотипу HCV відображена в таблиці 1.

Таблиця 1

Рівень вірусного навантаження залежності від генотипу HCV

Вірусне навантаження	1 генотип				3 генотип			
	Повний блот		Неповний блот		Повний блот		Неповний блот	
	кільк	%	кільк	%	кільк	%	кільк	%
ВВН	62	83.8	12	16.2	28	63.5	16	36.4
НВН	52	74.3	18	25.7	10	41.7	14	58.3
Всього	114	79.2	30	20.8	38	55.9	30	44.1

Отже, залежно від генотипу HCV, можна відмітити більш виражену тенденцію до збільшення відсотку хворих на ХГС з відсутністю у них тих чи інших неструктурних вірусних протеїнів (неповний блот) з низьким вірусним навантаженням при генотипі 3 порівняно з генотипом 1. Найбільш це стосується анти-NS5 (71,4% становить неповний блот при генотипі 3 з низьким вірусним навантаженням). Адже NS5 є компонентом реплікативного комплексу HCV та виконує функцію РНК залежної РНК-полімерази. В умовах припинення стимуляції імунної системи ферментами, що приймають участь у його реплікації, концентрація анти-HCV IgG NS5 суттєво знижується.

Противірусна терапія направлена на інактивацію вірусу гепатиту С, порушення синтезу нової РНК, вибіркочу деструкцію інфікованих клітин. Цим цілям в значній мірі служить інтерферонотерапія. Інтерферон – ендогенний цитокін – постійний природний компонент протиінфекційного захисту організму. Інтерферон виробляється та знаходиться переважно в клітинах крові, що містять ядра. Сироватковий пул представлений інтерферонами альфа, бета, гамма. Інтерферон альфа продукується лейкоцитами, інтерферон бета – фіксованими в тканинах макрофагами, інтерферон гамма – Т-лімфоцитами. Інтерферони володіють противірусними, проти-запальними, імунomodуючими та антипроліферативними властивостями. Інтерферон інгібує реплікацію тільки тих вірусів, які активно розмножуються, не впливаючи на латентну інфекцію. Отже, враховуючи це, основним показанням до інтерферонотерапії є наявність в організмі збудника інфекційного процесу в активному стані, а саме маркера

реплікації – РНК-НСV. Ефективність інтерферонотерапії при ХГС визначається такими факторами як тривалість та активність хвороби, вік, наявність ускладнень, супутня патологія, генотип вірусу, вірусне навантаження, ІЛ-28В, швидка вірусологічна відповідь, ступінь фіброзу [9, 10].

Всім 212 хворим на ХГС була проведена комбінована ПВТ, а саме інтерферонотерапія пегільованими інтерферонами альфа 2-а та альфа 2-в. Найбільш чутливими до дії інтерферону виявились ІgM-НСV, частота виявлення і концентрація яких знижувались з 36% до 23%, з 0,7 до 0,4 од. опт. щ. (див. рис. 2) навіть до повного їх зникнення у окремих хворих.

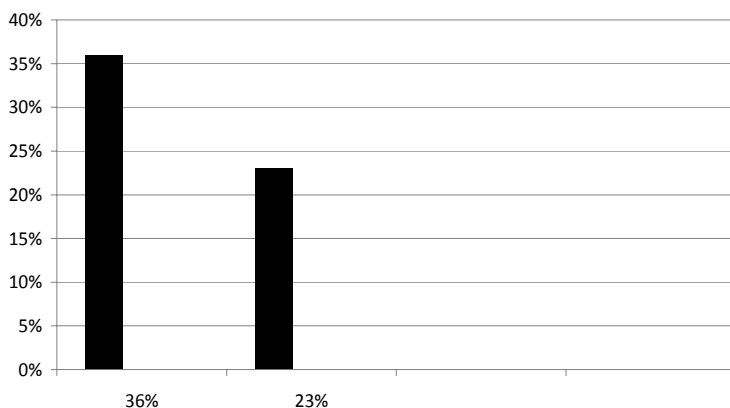


Рис. 2. ІgM до НСV при ХГС до та після противірусної терапії.

Подібна картина спостерігалась і по відношенню ІgG до НСV NS5, у меншій мірі реагували на препарат ІgG до НСV NS4 і ІgG – НСV NS3 (рис. 3).

Слід підкреслити, що реактивність сироваток крові до анти – НСV NS3 та ІgG до НСV-сог у деяких хворих навіть дещо зростала на фоні зниження рівнів ІgM НСV та ІgG NS5. Отже, імунологічна пам'ять до НВБ нетривала та у випадку припинення реплікації НСV (а це застосування ПВТ), відбувається зниження стимуляції ними імунної системи хазяїна – титри антитіл до NS3, NS4, NS5 швидко знижуються. Найрідше за все серед пацієнтів нашого дослідження ідентифікувалися анти-НСV ІgM та ІgG NS5 порівняно з ІgG NS4 та ІgG NS3. Зміна концентрації вірусспецифічних антитіл, зниження рівня гамма-глобулінів, біохімічних показників активності хвороби, супроводжувалась зникненням РНК – НСV, покращенням клінічної картини хвороби (зменшенням вираженості астеничного та больового синдромів), позитивними морфологічними змінами (зниженням

активності запального процесу, лімфоїдно-клітинної інфільтрації портальних трактів).

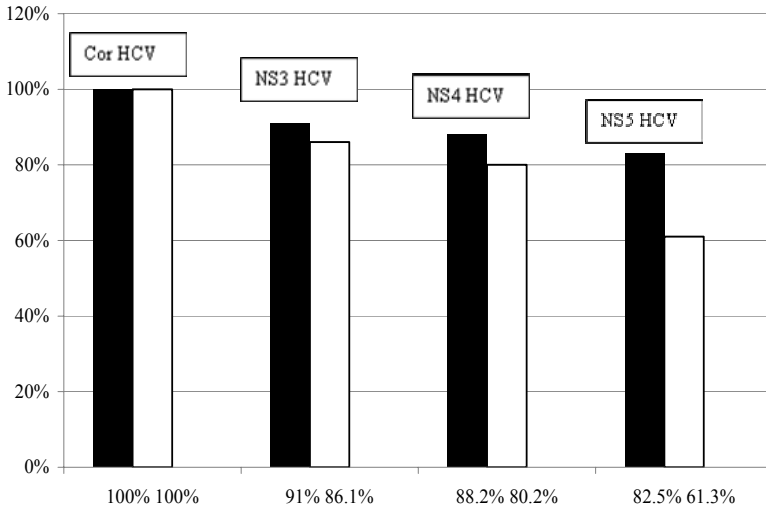


Рис. 3. Спектр антитіл IgG у хворих на ХГС до і після противірусної терапії

Висновки

1. При ХГС утворюються антитіла до різних антигенних структур вірусу гепатиту С, які є імуноглобулінами різних класів і володіють різними біологічними властивостями.
2. Найчастіше і у високій концентрації визначаються антитіла IgG до антигенів HCV core, NS3, NS4, рідше і в меншій кількості – анти-IgM та IgG до NS5 HCV.
3. Відмічається тенденція до кореляції антитіл до неструктурних вірусних протеїнів з рівнем вірусного навантаження та чітка кореляція з генотипом HCV.
4. При лікуванні пегільованими інтерферонами хворих на ХГС найбільш виражено знижується частота виявлення і концентрація анти- IgM та IgG до NS5 HCV, поряд з цим зменшуються ознаки клінічної та біологічної активності хвороби.

Література

1. Клименко Ж.Б. Особенности гуморального иммунного ответа на неструктурные вирусные протеины и факторы, влияющие на спонтанный клиренс HCV, у пациентов с хроническим гепатитом С / Ж.Б. Клименко // Клиническая инфектология и паразитология. – 2014. – № 3(10). – С. 62–68.
2. Мальный В.П. HCV-инфекция (острая и хроническая) / В.П. Мальный. – К., 2005. – 292 с.

3. Мицура В.М. Генотипы вируса гепатита С и нуклеотидная последовательность локуса NS3 у пациентов с хроническим гепатитом С в Гомельской области / В.М. Мицура, Е.В. Воробаева, О.В. Осипкина // Клиническая инфектология и паразитология. – 2014. – № 3(10). – С. 79–85.
4. Особенности иммунного ответа у больных хроническим вирусным гепатитом С / В.Т. Ивашкин, С.Н. Маммаев, Е.А. Лукина [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колонопроктологии. – 2001. – № 3 – С. 24–28.
5. Федорченко С.В. Хроническая HCV-инфекция / С.В.Федорченко. – К. : Медицина, 2010. – 272с.
6. Федорченко С.В. Клиническое значение определения антител к неструктурным вирусным протеинам при острой и хронической HCV-инфекции / С.В. Федорченко // Клиническая инфектология и паразитология. – 2013. – № 2(05). – С.59–68.
7. The natural history of hepatitis C virus infection / D.L. Thomas, J. Astemborski, RMRai [et al.] // JAMA. – 2000. – Vol. 284, № 4. – P.450–456.
8. Frequent recovery and broad genotype 2 diversity characterize hepatitis C virus infection in Ghana / D. Condotti, J.Temple, F. Sarkodie, J. Allain // J. Virol. – 2003. – Vol. 77, № 14. – P. 7914–7923.
9. Thompson A.J.V. Antiviral resistance and specifically targeted therapy for HCV (STAT-C) / A.J.V. Thompson, J.G. McHutchison // J.Vir.Hepatit. – 2009. – Vol. 16, no 6. – P. 377–387.
10. Kieffer T.L. Resistance to hepatitis C virus protease inhibitors / T.L. Kieffer, S. George // Curr.Opin.Virol. – 2014. – Vol. 8. – P. 16–21.

ОСОБЕННОСТИ ГУМОРАЛЬНОГО ОТВЕТА К НЕСТРУКТУРНЫМ ВИРУСНЫМ ПРОТЕИНАМ У БОЛЬНЫХ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ С В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПА ВИРУСА, УРОВНЯ ВИРЕМИИ И ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ

Ж.Б. Клименко

Резюме. Проанализированы и определены особенности гуморального иммунного ответа у больных хроническим гепатитом С. Полученные данные свидетельствуют о достаточно высоком гуморальном ответе на неструктурные вирусные белки к сор антигену, анти-NS3, анти- NS4, которые после получения больными противовирусной терапии имеют незначительную тенденцию к снижению, в то время как частота снижения IgM и анти -NS5 более выражена.

Ключевые слова: гуморальный иммунный ответ, неструктурные вирусные белки, хронический гепатит С.

FEATURES OF THE HUMORAL IMMUNE RESPONSE TO NONSTRUCTURAL VIRAL PROTEINS IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C DEPENDING ON GENOTYPE VIRUS, VIREMIA LEVEL AND ANTIVIRAL THERAPY

Z. Klymenko

Summary. And analyzed the features of humoral immune response in patients with chronic hepatitis C. These data suggest relatively high humoral response to non-structural viral proteins to cor antigen, anti-NS3, anti-NS4, which after receiving antiviral therapy

patients have a slight tendency to decrease, while reducing the frequency of IgM and anti - NS5 more pronounced.ume

Key words: the humoral immune response, non- structural viral proteins, the chronic hepatitis C.

УДК [616.34:616.9]+613.31

ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАХВОРЮВАНOSTІ ДЕЯКИМИ КИШКОВИМИ ІНФЕКЦІЯМИ НАСЕЛЕННЯ УКРАЇНСЬКОГО ПРИДУНАВ'Я

Л.Й. Ковальчук, А.В. Мокієнко, В.М. Закусило

Резюме. В роботі проведена характеристика захворюваності деякими кишковими інфекціями дитячого та дорослого населення Українського Придунав'я (м. Ізмаїл, Болградський, Ізмаїльський, Кілійський, Ренійський, Татарбунарський райони) за 2004–2013 рр. Встановлено статистично вірогідний ріст захворюваності (гострі кишкові захворювання; ентерити, викликані іншими встановленими збудниками; гастроентероколіти; інфекційні та паразитарні хвороби; кишкові інфекції; гострі кишкові інфекції не встановленої етіології) у порівнянні із даними по районах та області. Зважаючи на вкрай напружену санітарно-епідеміологічну ситуацію із станом поверхневих водоем та якістю питної води у регіоні, зроблено попередній висновок про суттєвий вклад водного фактору у ріст такої захворюваності. Обґрунтовано необхідність більш детальних, у тому числі молекулярно-епідеміологічних досліджень.

Ключові слова: населення, захворюваність, кишкові інфекції, Українське Придунав'я.

Доведена воднообумовленість гострих кишкових інфекцій [1] свідчить про необхідність гігієнічних і епідеміологічних досліджень у цьому контексті [2, 3]. Однак, кількість таких досліджень в Україні вкрай обмежена, причому найбільш помітні стосуються Одеси і Одеської області [4, 5]. У цьому регіоні звертає особливу увагу Українське Придунав'я, оскільки тут проблема якості води в останні десятиліття набула особливої гостроти, що впливає на захворюваність населення і демографічну ситуацію в цілому [6, 7]. Цілеспрямовані дослідження в цьому контексті практично відсутні, за винятком деяких публікацій [8–10].

Мета дослідження: проведення характеристики захворюваності деякими кишковими інфекціями населення Українського Придунав'я.

Матеріали та методи

У роботі застосовували аналітичні і математичні методи досліджень.

Захворюваність населення кишковими інфекціями (гострі кишкові захворювання; ентерити, викликані іншими встановленими збудниками; гастроентероколіти, вірусний гепатит А; інфекційні та паразитарні хворо-