

УДК 616.36-002-022.7:578.891]:[616-008.6-092:577.112.825:612.014.43

**ВИВЧЕННЯ МОЖЛИВОГО ВПЛИВУ ДЕЯКИХ ФАКТОРІВ
НА РОЗВИТОК КРІОГЛОБУЛІНЕМІЧНОГО СИНДРОМУ
У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С**

Л.О. Кондратюк

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ

Ключові слова: хронічний гепатит С, позапечінкові прояви, криоглобулінемічний синдром, поліморфізм ІЛ 28В

**ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОГО ВЛИЯНИЯ НЕКОТОРЫХ ФАКТОРОВ НА
РАЗВИТИЕ КРИОГЛОБУЛИНЕМИЧЕСКОГО СИНДРОМА У БОЛЬНЫХ
ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С**

Л.О. Кондратюк

Целью этой работы является исследование возможности влияния факторов со стороны вируса гепатита С (ВГС) и организма хозяина на развитие криоглобулинемического синдрома (КГС) у больных с хроническим гепатитом С (ХГС). Изучалось также возможное прогностическое влияние полиморфизма гена ИЛ 28В при HCV-ассоциированном КГС. Под наблюдением находилось 109 больных ХГС, которые были распределены на группы: I группа – 67 (61,5%) пациентов с ХГС и КГС, II группа – 42 (38,5%) пациента с ХГС без КГС. Полиморфизм гена ИЛ 28В определялся у 20 пациентов I группы и 21 пациента II группы, которым планировалась ПВТ.

В результате проведенного исследования не установлено взаимосвязи между развитием КГС, генотипом ВГС и вирусологической нагрузкой. Показано, что КГС при ХГС чаще развивается у женщин старше 40 лет. Не установлено в этом исследовании прямой зависимости развития КГС от полиморфизма гена ИЛ 28В у пациентов с I генотипом вируса гепатита С. Однако отмечена зависимость между полиморфизмом гена ИЛ 28В, УВО, полным клиническим и иммунологическим ответом у пациентов с I генотипом HCV с легким и среднетяжелым КГС. Также показано, что наличие легкого и среднетяжелого КГС у пациентов не влияет на достижение ими УВО.

Ключевые слова: хронический гепатит С, внепеченочные проявления, криоглобулинемический синдром, полиморфизм ИЛ28 В.

INVESTIGATION OF INFLUENCE OF SOME FACTORS ON THE DEVELOPMENT OF CRYOGLOBULINEMIC SYNDROME IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C

L. Kondratiuk

The aim of this work is to study the possibility of influence of hepatitis C virus (HCV) factors and the patient's factors on the development of cryoglobulinemic syndrome (CGS) in patients with chronic hepatitis C (CHC). A possible prognostic influence of IL 28B polymorphism in case of HCV-CGS has also been investigated. The study involved 109 patients with CHC who were divided into 2 groups: group I - 67 (61.5%) patients with CHC and CGS and group II - 42 (38.5%) patients with CHC without CGS. IL 28B polymorphism was performed for 20 patients from the 1st group and for 21 patients from the 2nd group who were planned for antiviral treatment.

The correlation between the development of CGS, HCV genotype and viral load has not been established in this study. It has also been shown that CGS in CHC patients often occurs in women over 40 years. The IL 28B genotype did not appear as a direct genetic factor in patients with the 1-st genotype of HCV influencing the evolution of HCV infection to MC syndrome. However, the relation between IL 28B polymorphism, SVR (which corresponds to the literature data), complete clinical and complete immunological response in patients with genotype 1 HCV with mild to moderate CGS has been observed. It has also been shown that the presence of mild and moderate CGC in CHC patients did not affect the achievement of SVR.

Key words: chronic hepatitis C, extrahepatic manifestations, cryoglobulinemic syndrome, IL28 B polymorphism

Вступ. Вірусний гепатит С (ВГС, HCV-інфекція) – хронічне захворювання, яке переважно пов'язується з ураженням печінки – хронічним гепатитом, цирозом печінки та гепатоцелюлярною карциномою, проте значна частина пацієнтів страждає також на позапечінкові прояви HCV-інфекції. Майже відразу після відкриття вірусу гепатиту С, була доведена його лімфотропність [1], тому деякі лімфопроліферативні захворювання, у тому числі і змішана кріоглобулінемія (ЗКГ), асоціюються з HCV [2–6].

Кріоглобулінемічний синдром (КГС) – імунозалежний процес, обу-

мовлений наявністю в сироватці крові патологічних білків – кріоглобулінів (КГ), що належать до імуноглобулінів, які можуть зворотно преципітуватися при зниженні температури менше 37°C. КГС характеризується розмаїттям клінічних проявів (судинна пурпура, артралгії, загальна слабкість, нейропатії, гломерулонефрит), які виникають на різних етапах захворювання і залежать від локалізації ураження судин, тривалості хвороби, типу кріоглобулінів [7-10].

Згідно даних більшості досліджень, КГС частіше зустрічається в осіб після 40 років, при чому жінки хворіють

дещо частіше (55–60%), ніж чоловіки. Проте ця різниця помічається після 40 років і залежить від вікового зниження рівня естрадіолу в крові жінок. Іншими факторами, які впливають на розвиток КГС у хворих на ХГС, є вживання алкоголю (>50 г/д), розвинений фіброз та стеатоз печінки. За даними деяких дослідників існує асоціація 2а генотипу вірусу гепатиту С з розвитком ЗКГ, проте це потребує додаткового підтвердження [7,13].

На сьогоднішній день застосування противірусної терапії (ПВТ) є найбільш обґрунтованим при КГС у хворих на ХГС. Противірусні препарати (Пег-ІФН, рибавірин) розглядаються в якості основного лікування, яке призначається ізольовано, або спільно з патогенетичними і симптоматичними засобами [7,11,12]. Одними з основних факторів, які впливають на результати ПВТ, є генетичні, особливо поліморфізм гена інтерлейкіна 28В (ІЛ 28В). Інтерлейкін 28В є представником інтерферонів-лямбда, або інтерферонів 3-го типу, які володіють сильною противірусною дією і пригнічують реплікацію ВГС. Був вивчений поліморфізм гена ІЛ 28В, що пов'язаний зі стійкою вірусологічною відповіддю (СВВ) у пацієнтів з ХГС, зумовленим 1 генотипом ВГС [13-15]. При ХГС з 2-м та 3-м генотипами HCV прогностична цінність визначення поліморфізму гена ІЛ 28В є спірною та не має істотного значення [16,17]. Проте, сьогодні мало літературних даних стосовно можливої прогностичної ролі поліморфізму гена ІЛ 28В при HCV-асоційованому КГС [18,19].

Метою роботи є дослідження можливості впливу факторів зі сторони вірусу гепатиту С та організму хазяїна на розвиток КГС, а також можливої прогностичної ролі поліморфізму гена ІЛ 28В при HCV-асоційованому КГС.

Матеріали і методи. Для спостереження знаходилося 109 хворих на ХГС. Діагноз ХГС виставлявся на підставі класифікації хронічних гепатитів, запропонованої на Міжнародному конгресі гастроентерологів (Лос-Анджелес, 1994 р.) [20]. Хворих розподілено на групи: I група – 67 (61,5 %) пацієнтів з ХГС та КГС (згідно діагностичних критеріїв змішаної кріоглобулінемії Європейської асоціації по вивченню печінки (2012р.) [14]); II група – 42 (38,5 %) пацієнти з ХГС без КГС, тобто в них відсутні кріоглобуліни та відповідно клінічні симптоми КГС.

Вміст кріоглобулінів у сироватці крові визначався спектрофотометричним методом з вираховуванням різниці оптичної щільності розчину сироватки крові в буфері (рН=8,6) при 4°C та 37°C [7,21,22].

Серологічні дослідження проведені за допомогою ІФА на аналізаторі ELISA III покоління; визначення РНК ВГС, генотипування ВГС проводилося методикою ПЦР у режимі Real-time на аналізаторі Taqman-48 (Roche Diagnostics, Швейцарія) за допомогою тест-системи Roche Diagnostics (Швейцарія). Визначення поліморфізму гена ІЛ 28В проводилось за допомогою методики Real-Time PCR на аналізаторі ДТ-96 з використанням тест-системи

«ДНК-Технологія» (Росія). Поліморфізм гена ІЛ28В досліджували лише в пацієнтів з 1 генотипом ВГС, яким планувалося проведення стандартної противірусної терапії (ПВТ) – 21 пацієнт із 1-ої групи та 20 пацієнтів II-ї групи.

Стандартна подвійна ПВТ, яка проводилася хворим, включала ПЕГ-ІФН + рибавірин за стандартною схемою [13,14]. Хворі спостерігалися протягом усього курсу ПВТ та протягом 6 місяців після її завершення. Всі пацієнти I групи мали легкий та середньої важкості КГС, тобто, у жодного хворого не було гломерулонефриту та жоден пацієнт протягом дослідження не приймав глюкокортикостероїди або інші імуносупресивні препарати.

Відповідь на лікування включала оцінку клінічних, вірусологічних та імунологічних параметрів. Повна клінічна відповідь оцінювалася як зникнення усіх клінічних проявів КГС, які були у пацієнтів до лікування; часткова клінічна відповідь оцінювалася як зникнення, принаймні, половини клінічних симптомів [18,23]. Стійка вірусологічна відповідь (СВВ) визначалася як відсутність РНК ВГС через 6 місяців після завершення ПВТ [13,14]. Повна імунологічна відповідь визначалася як відсутність циркулюючих КГ, часткова імунологічна відповідь оцінювалася як зниження вмісту циркулюючих КГ >50% від початкового рівня [23].

Статистична обробка результатів досліджень здійснювалася на персональному комп'ютері з використанням сформованої бази даних пацієнтів у програмі «Statistica®for Windows 6.0» та Microsoft Excel 2010.

Результати дослідження та їх обговорення. У I групі чоловіків було 20 (29,9%), жінок – 47 (70,1%), у II групі – чоловіків 23 (54,8%), жінок – 19 (45,2%). Середній вік хворих I групи становив $42,6 \pm 10,6$ років, II групи – $35,9 \pm 4,1$ років. Таким чином, серед хворих ХГС з КГС переважали жінки віком старше 40 років.

У результаті нашого дослідження з'ясовано, що у першій групі хворих було 38 (56,7%) пацієнтів з 1-м генотипом вірусу, 26 (38,8%) осіб з 3-м генотипом та 3 (4,5%) особи з 2 генотипом ВГС. Серед пацієнтів II групи спостерігалось 23 (54,8%) хворих з 1 генотипом, 18 (42,8%) хворих з 3 генотипом та 1 (2,4%) особа з 2 генотипом ВГС. Таким чином, у нашому дослідженні, як і в загальній популяції європейського регіону, переважали хворі з 1 та 3 генотипами ВГС, тому досить важко сказати про залежність розвитку КГС від генотипу ВГС.

При підрахунку середнього вірусного навантаження не визначено статистично достовірної різниці у пацієнтів I та II груп ($4,8 \cdot 10^5 \pm 9,3 \cdot 10^5$ МО/мл та $5,6 \cdot 10^5 \pm 8,7 \cdot 10^5$ МО/мл, відповідно).

При дослідженні поліморфізму гена ІЛ 28В отримано дані, які наведені в таблиці 1.

Згідно результатів, наведених у таблиці, розподіл пацієнтів за генотипами гена ІЛ 28В в обох групах істотно не відрізнявся. Тому можна зробити висновок, що в даному дослідженні не встановлено прямого зв'язку між поліморфізмом гена ІЛ 28В та розвитком КГС.

Таблиця 1.

Вплив поліморфізму гена ІЛ-28В на розвиток КГС.

Показник	Пацієнти I групи n=21 (100 %)	Пацієнти II групи n=20(100 %)
ІЛ28В (rs12979860) С/С	5 (23,8%)	6 (30%)
ІЛ28В (rs12979860) С/Т	13 (61,9%)	10 (50%)
ІЛ28В (rs12979860) Т/Т	3 (14,3%)	4 (20%)

У дослідженні також оцінювався вплив поліморфізму гена ІЛ 28В на результати ПВТ у пацієнтів з 1 генотипом ВГС. У хворих I групи, крім СВВ, також визначалася повна клінічна та імунологічна відповіді, критерії оцінки яких подані вище. Результати показані на рис. 1, для порівняння також показаний рівень СВВ у пацієнтів II групи (рис. 2).

Серед 41 пролікованого пацієнта з 1 генотипом вірусу СВВ досягли 18 (43,9%) пацієнтів. При розподілі по групах підраховано, що 9 (50%) пацієнтів I групи та 9 (50%) пацієнтів II групи досягли СВВ, тобто згідно цих даних, наявність КГС легкого та середнього ступеня важкості у пацієнтів з ХГС не впливає на досягнення СВВ.

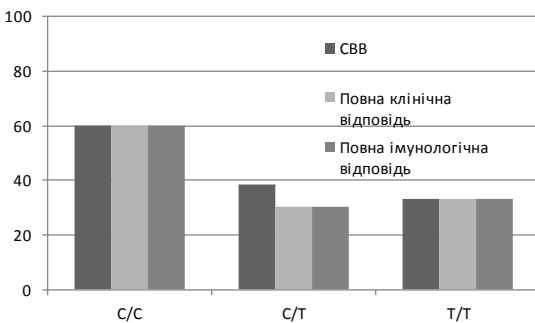


Рисунок 1. Оцінка СВВ, повної клінічної та імунологічної відповіді на ПВТ, в залежності від поліморфізму гена ІЛ28В rs12979860 у пацієнтів I групи з 1 генотипом НСV.

В обох групах найвищий рівень СВВ спостерігався у пацієнтів з генотипом С/С: у 60% пацієнтів I-ої та 67% пацієнтів II-ї групи. Рідше СВВ спостерігалася у пацієнтів з генотипом Т/Т – по одному пацієнту кожної групи (33,3% та 25% відповідно); 5 (38,5%) та 4 (40%) пацієнтів з генотипом С/Т I та II груп відповідно досягли СВВ. Отримані результати співпадають з даними літератури [13, 14, 24].

Майже усі пацієнти I групи (8; 88,9%), які досягли СВВ, отримали також повну клінічну та імунологічну відповіді. Проте в 1 пацієнта з генотипом С/Т ІЛ 28В при досягненні СВВ, зберігалися дещо підвищений рівень

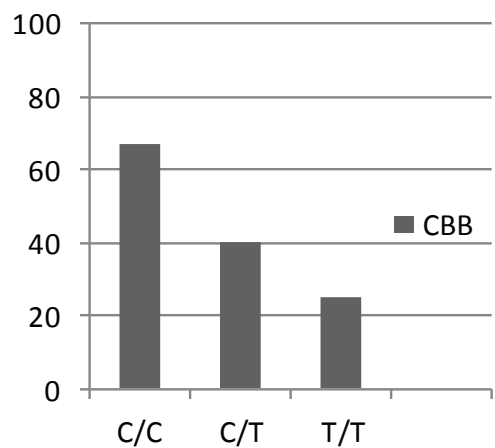


Рисунок 2. Оцінка СВВ на ПВТ в залежності від поліморфізму гена ІЛ28В rs12979860 у пацієнтів II групи з 1 генотипом НСV.

кріоглобулінів у крові та загальна слабкість, проте ці прояви були менш виражені, ніж до лікування. У цьому випадку можна говорити про часткову клінічну та імунологічну відповідь. Отже, згідно результатів даного дослідження, досягнення СВВ у пацієнтів з ХГС і КГС легкого та середнього ступеня важкості асоціюється з досягненням повної клінічної та імунологічної відповіді на проведену ПВТ.

Висновки. При дослідженні факторів зі сторони ВГС не встановлено взаємозв'язку між розвитком КГС, генотипом вірусу та вірусологічним навантаженням. Крім того, результати досліджень свідчать, що КГС при ХГС

частіше розвивається у жінок віком старше 40 років.

У даному дослідженні не встановлено прямого зв'язку між поліморфізмом гена ІІ 28В та розвитком КГС у пацієнтів з І генотипом вірусу гепатиту С. Проте, відзначено, що поліморфізм гена ІІ 28В асоціюється з СВВ (що співпадає з даними літератури), повною клінічною та імунологічною відповіддю у пацієнтів з І генотипом HCV з легким та середньої важкості перебігом КГС. Також показано, що наявність КГС легкого та середнього ступеня важкості у пацієнтів з ХГС не впливає на досягнення ними СВВ.

Література

1. Zignego AL., Macchia D., Monti M., [et al.] Infection of peripheral mononuclear blood cells by hepatitis C virus // *J. Hepatol.* – 1992. - N15. - P. 382–386.
2. Zignego AL., Giannini C., Monti M., [et al.] Hepatitis C virus lymphotropism: lessons from a decade of studies // *Dig Liver Dis.* – 2007. - Vol. 39. – Suppl. 1. - S38–45.
3. Ferri C., Marzo E., Longombardo G., [et al.] Interferon- α in mixed cryoglobulinemia patients: a randomized, crossovercontrolled trial // *Blood.* – 1993. - Vol. 81. - N 5. - P. 1132–1136.
4. Ferri C., Monti M., La Civita L., [et al.] Infection of peripheral blood mononuclear cells by hepatitis C virus in mixed cryoglobulinemia // *Blood.* - Vol. 82. - N12. – P. 3701–3704, 1993.
5. Ferri C., La Civita L., Monti M., [et al.] Can type C hepatitis infection be complicated by malignant lymphoma? // *The Lancet.* – 1995. - Vol. 346. - N8987. - P. 1426–1427.
6. Zignego AL., Ferri C., Giannini C., [et al.] Hepatitis C virus genotype analysis in patients with type II mixed cryoglobulinemia // *Ann Intern Med.* – 1996. - Vol. 124. - N1. - P. 31–34.
7. Чоп'як В.В., Господарський І.Я., Герасун Б.А. Клінічний алгоритм надання медичної допомоги хворим на поліклоновий (змішаний) кріоглобулінемічний синдром – D89.1 (методичні рекомендації). – К., 2006. – 33с.
8. Ferri C, Zignego AL, Pileri SA Cryoglobulins (review) // *J. Clin. Pathol.* – 2002. – N. 55. – P. 4–13.
9. Рябоконт Ю.Ю., Колесник М.Ю., Абрамов А.В. Взаємозв'язки показників ендотеліозалежної функції ендотелію та ступеня виразності змішаної кріоглобулінемії у хворих на хронічний гепатит С // *Запорожский медицинский журнал.* – 2012. - № 2. – С. 52–55.
10. Weng W-K., Levy S. Hepatitis C virus (HCV) and lymphomagenesis // *Leukemia Lymphoma.* – 2003. – N.44. – P. 1113–1112.
11. Игнатова Т.М. Лечение внепеченочных проявлений хронической HCV-инфекции // *Сучасна гастроентерологія.* – 2006. - №3 (27). – С.20–29.
12. Pietrogrande M., De Vita S., Zingego AL., [et al.] Recommendations for management of mixed cryoglobulinemia syndrome in hepatitis C virus-infected patients // *Autoimmunity Reviews.* – 2011. – N.10. – P.444–454.

13. Mauss S., Berg T., Rockstroh J., [et al.] Hepatology 2012. A Clinical Textbook - Flying Publisher, 2012. – 546p.
14. Short Guide to Hepatitis C 2012. / ed. by S. Mauss, T. Berg, J. Rockstroh, [et al.] – Flying Publisher. – 2012. – 150 p.
15. Lange CM., Zeuzem S. IL28B single nucleotide polymorphisms in the treatment of hepatitis C // J Hepatol. – 2011. - N.55. – P.692–701.
16. Kawaoka T., Hayes CN., Ohishi W. [et al.] Predictive value of the IL28B polymorphism on the effect of interferon therapy in chronic hepatitis C patients with genotypes 2a and 2b // J Hepatol 2011. – N.54. – P.408–414.
17. Moghaddam A., Melum E., Reinton N. [et al.] IL28B genetic variation and treatment response in patients with hepatitis C virus genotype 3 infection // Hepatology. – 2011. – N.53. – P.746–754.
18. Piluso A., Giannini C., Fognani E., [et al.] Value of IL28B genotyping in patients with HCV-related mixed cryoglobulinemia: results of a large, prospective study // JVH. – 2013. – N.20. – P.107-114.
19. Fan XH., Wu CH., Zhenq YY., [et al.] The difference of IL-28B polymorphisms between hepatitis C patients with and without cryoglobulinemia // Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi. – 2013. – N.21(6). – P. 429-433.
20. Desmet VJ., Gerser M., Hoofnagle JH. et al. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging // Hepatology. – 1994. – Vol. 19. - №6. – P. 1513–1520.
21. Константинова Н. А., Кирсанов А. Ю. Оценка криоглобулинов в сыворотке крови с учетом циркулирующих иммунных комплексов // Лабор. дело. – 1989. - №11. – С. 62-65.
22. Вермель А.Е. Криоглобулины и криоглобулинемия // Клин. мед. – 2000. - №12. – С. 14-19.
23. Saadoun D., Resche-Rigon M., Thibault V. Antiviral therapy for hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia vasculitis // Arthritis & Rheumatism. – 2006. – Vol.54. – N.11. – P.3696-3706.
24. McCarthy JJ., Li JH., Thompson A. [et al.] Replicated association between an IL28B gene variant and a sustained response to pegylated interferon and ribavirin // Gastroenterology. – 2010. – N.138. – P.2307–2314.