

УДК 616.36-002; 616:612.017.1

КЛІНІКО-ІМУНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ГЕНОТИПУ ВІРУСУ

Ж.Б.Понежева, Б.С.Нагоєв, Н.В.Дубініна, О.В.Калюжин

Кабардино-Балкарський університет (Нальчик, РФ)

Національний фармацевтичний університет (Харків)

Перший Московський медичний університет (Москва, РФ)

Вступ

Високі показники захворюваності, можливість розвитку серйозних ускладнень, наявність летальних результатів, невирішеність багатьох питань протиірусної терапії та значний економічний збиток визначають гепатит С як одну з найбільш актуальних медико-соціальних проблем охорони здоров'я [2]. Широке поширення хронічного гепатиту С (ХГС) серед споживачів ін'єкційних наркотиків ще більше ускладнює епідеміологічну обстановку, тим більше, що уражається притаманно молоде працездатне населення [6]. Актуальність ХГС обумовлена також тривалістю безсимптомного перебігу, що ускладнює своєчасну діагностику і протиірусну терапію [3,5]. Виявлено значна варіабельність чутливості віrusу гепатиту С (НСУ) до етіотропного лікування в залежності від його генотипу [4]. Разом з тим імунологічні особливості ХГС, викликаного НСУ різних генотипів, і їх виляння на клінічну картину захворювання вивчені недостатньо.

Метою дослідження було вивчення клініко-імунологічного стану хворих ХГС в залежності від генотипу віруса.

Матеріали і методи дослідження

На базі кафедри інфекційних хвороб медичного факультету Кабардино-Балкарського держуніверситету (КБГУ) в клініці Республіканського центру інфекційних хвороб (РЦІХ) обстежено 146 хворих ХГС у віці від 18 до 60 років, з них 94 чоловіки і 52 жінки. Діагноз ХГС встановлювався на підставі епідеміологічних, клінічних, лабораторних даних і підтверджувався виявленням специфічних серологічних маркерів ме-

тодом ІФА (anti-HCV IgM, G, G+M; anti-HCVcor IgM, G, G+M) при відсутності маркерів вірусів гепатиту А, В, Г, а також детекцією РНК HCV методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). У 87 хворих визначали вірусне навантаження. У 100 пацієнтів проводили генотипування HCV.

У всіх хворих досліджували імунний статус, включаючи показники клітинного та гуморального імунітету, фагоцитозу, рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) і ключових цитокінів в сироватці крові. Морфологічні дослідження біопсійного матеріалу печінки проведені у 32 хворих, еластографія виконана 38 хворим, УЗД черевної порожнини - всім пацієнтам.

Кількісні дані представлені як середнє ± стандартне відхилення, якісно - у вигляді частки в вибікової сукупності. Достовірність відмінностей між двома незалежними вибірками кількісних показників оцінювали, використовуючи U-критерій Манна-Уїтні. Порівняння пов'язаних вибірок проводили за допомогою критерію Вілкоксона. Для виявлення відмінностей між групами по якісним ознакам використовували критерій Фішера і χ^2 . Статистично значущими вважали відмінності при $p < 0.05$. Зв'язок кількох змінних аналізували за допомогою коефіцієнта рангової кореляції Спірмена.

Отримані результати та їх обговорення

У 112 пацієнтів ХГС методом ПЛР у сироватці крові виявлено РНК HCV; 34 хворих були HCV-негативними.

При зборі анамнезу встановлено епідеміологічного ймовірні шляхи зараження: у 54 хворих (37%) зараження пов'язане з епізодичним або постійним парентеральним введенням наркотичних речовин (31 з них зловживають алкоголем); у 39 (27%) - гемотрансфузіями і інвазивними медичними маніпуляціями; у 11 (7,5%) - професійним контактом з кров'ю та її препаратами; у 7 (4,8%) - пірсингом і татуюванням; у 4 (2,7%) - тісними побутовими та/або статевими контактами. У 31 хвого (21%) судити про тривалість захворювання не представлялося можливим.

Можлива тривалість захворювання була менше 3 років у 42 хворих (28,7%), від 3 до 5 років - у 47 хворих (32,2%), від 5 до 10 років - у 28 хворих (19,1%), більше 10 років - у 17 хворих (12,3%). У 12 пацієнтів (7,7%) тривалість захворювання встановити не вдалося.

Генотипування HCV у 100 хворих ХГС виявило субтипи 1 β , За, 1а, 2 з явним переважанням 1 β (43%) і За (46%). Одночасне інфікування 1 β +За відзначено у 7 хворих, у 2 хворих виявленій HCV з генотипом 2 і ще у 2-1а. Виявлено, що чоловіків було достовірно більше серед хворих з генотипом вірусу За (79%) у порівнянні з такими з генотипом 1 β . Середній вік хворих з генотипом HCVЗа був "молодше" ($29,7 \pm 1,1$), ніж у групі з HCV1 β -інфекцією, де середній вік склав $34,4 \pm 1,7$.

Хворі ХГС з домінуючими субтипами вірусу (За і 1 β) були піддані загибленим клініко-лабораторним дослідженням.

Достовірних відмінностей за клінічними проявами ХГС і по наявності супутніх захворювань залежно від генотипу HCV не виявлено. У всіх хворих найбільш часто відзначенні: астеновегетативний синдром (72% пацієнтів), диспесичний синдром (67%), біль та/або тяжкість у правому підребер'ї (60%), гепатомегалія (47%). У 37% хворих на ХГС (частіше у зловживають алкоголем і регулярно порушують дієту) виявлено УЗД - ознаки жирового гепатозу. Супутні захворювання шлунково-кишкового тракту виявлені у 42 хворих (51%), захворювання щитовидної залози - у 5 пацієнтів, цукровий діабет II типу - у 2 хворих. Біохімічні параметри крові також суттєво не відрізнялися у хворих з різними генотипами HCV (табл.1), за винятком показників тимолової проби, які були вищими ($p < 0,05$) у хворих з генотипом 1 β .

Таблиця 1

Біохімічні показники у хворих ХГС в залежності від генотипу HCV

Показник	Здорові	Хворі ХГС (HCV+)	
		1 β	За
Загальний білірубін, мкмоль/л	$14,5 \pm 1,2$	$61,3 \pm 1,1$	$52,5 \pm 1,5$
АСТ, ммоль/л	$0,34 \pm 0,2$	$1,9 \pm 0,2$	$1,61 \pm 0,1$
АЛТ, ммоль/л	$0,34 \pm 0,2$	$2,1 \pm 0,2$	$1,91 \pm 0,1$
Тимолова проба, од	$2,8 \pm 0,2$	$10,4 \pm 1,2^*$	$6,5 \pm 1,1$
Протромбіновий індекс, %	$85,5 \pm 1,1$	$71,4 \pm 1,9$	$77,9 \pm 1,7$
Загальний білок, г/л	$78,8 \pm 1,5$	$76,5 \pm 1,2$	$77,2 \pm 1,1$
Альбуміни, г/л	$42,4 \pm 1,3$	$37,8 \pm 2,1$	$37,4 \pm 1,9$
г-глобуліни, г/л	$15,1 \pm 1,1$	$23,9 \pm 0,9$	$21,8 \pm 1,1$
Лужна фосфатаза	$91,9 \pm 5,7$	$101,5 \pm 4,1$	$101,3 \pm 4,9$

Примітка: * - $p < 0,05$ в порівнянні з показниками хворих ХГС з генотипом HCV За.

Взаємозв'язків між біохімічними показниками, рівнем вірусного навантаження і генотипом HCV не виявлено.

При порівнянні груп з генотипами За і 1 β за ступенем фіброзу печінки що виражений (рис.1) виявлено статистично значуще ($p < 0,05$) переважання частки хворих з відсутністю або мінімальними проявами фіброзу (Ф0-1) в групі з генотипом За. Хворі з цирозом (Ф4) у цій групі були відсутніми на відміну ($p < 0,05$) від пацієнтів з HCV1 β -інфекцією (17%).

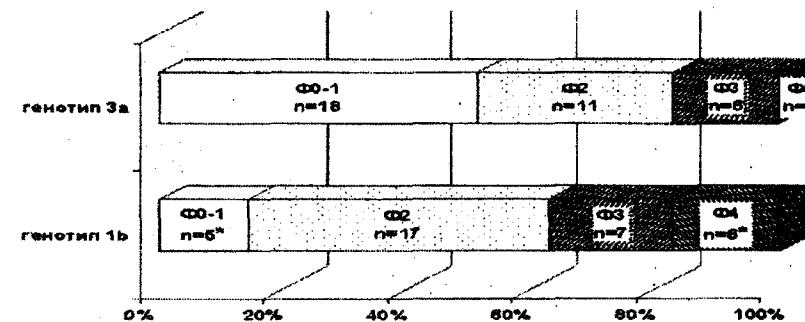


Рис. 1. Розподіл хворих за ступенем фіброзу печінки залежно від генотипу HCV (* - $p < 0,05$ в порівнянні з показниками хворих з генотипом HCV За).

Хворі на ХГС з генотипами HCV За і 1 β характеризувалися односпрямованими змінами системних імунологічних показників, проте ступінь цих змін варіювала в залежності від субтипу вірусу (табл. 2). У крові пацієнтів з HCV1 β -інфекцією в меншій мірі знижувалися відносна кількість СБ3+ клітин (T-лімфоцитів), фагоцитарне число, індекс завершеності фагоцитозу; підвищувалися відносне число СР8+клітин (цитотоксичних лімфоцитів) і показники спонтанного НСТ-тесту, що характеризують кисневе залежний метаболізм нейтрофілів. З іншого боку, у цих хворих в більшій, ніж у пацієнтів з HCVЗа-інфекцією, ступеня знижалась відносна кількість CD4+(T-хелперів) і CD16 лімфоцитів (NKT-клітин); підвищувалися кількість СБ95 (маркер пізньої активації та готовності до апоптозу) і CD3+CB56+(NKT-клітин), рівень IgG і циркулюючих імунних комплексів. У крові хворих ХГС, викликаним обома домінуючими субтипами вірусу, приблизно в рівній мірі збільшували-

ся число CD25 (активованих лімфоцитів і Т-регуляторних клітин) і CD19+клітин (В-лімфоцитів), рівень IgG; подібним чином знижувався імунорегуляторний індекс (CD4+/CD8+).

Таблиця 2

Показники імунітету хворих на ХГС

Показник	Здорові (n = 25)	Хворі на ХГС (HCV+)		P	РТ
		Генотип 1b (n = 43)	Генотип 3a (n=46)		
CD3+ клітини, %	61,8 ± 1,7	59,5 ± 1,3*	57,9 ± 1,4	p<0,01	P<0,01
CD4+ клітини, %	39,5 ± 1,2	35,8 ± 1,01*	37,4 ± 0,8	p<0,01	p<0,01
СВД8+ клітини, %	20,8 ± 1,1	23,7 ± 1,7	25,1 ± 1,4	p<0,01	p<0,01
CD16+ клітини, %	10,5 ± 0,8	7,8 ± 1,1	8,9 ± 1,5	p<0,01	p<0,01
CD3+CD56+клітини, %	4,5 ± 0,8	7,8 ± 1,2*	5,9 ± 1,5	p<0,01	P<0,01
CD25+ клітини, %	7,4± 0,9	9,1± 0,9	8,5± 1,1	p<0,01	p<0,05
CD95+ клітини, %	5,8± 0,7	16,6 ± 1,1*	15,3 ± 1,2	p<0,01	p<0,01
CD4+/CD8+	1,8 ±0,1	1,5 ±0,1	1,5 ±0,1	p<0,01	P<0,01
Фагоцитарне число, у.о.	7,4 ±0,1	6,8 ± 0,2*	6,1 ± 0,5	p<0,01	p<0,01
Індекс завершеності фагоцитозу, у.о.	1,00 ±0,04	0,78 ±0,01*	0,67 ± 0,01	p<0,01	p<0,01
Спонт. НСТ-тест, у.о.	15,0 ± 1,4	38,2 ± 1,5*	42,4 ± 1,5	p<0,01	p<0,01
CD19+ клітини, %	11,5 ±0,9	12,9 ± 0,6	13,1 ±0,5	p<0,01	p<0,01
IgA, г/л	2,1 ±0,3	2,2 ± 0,2	2,1 ±0,2	p>0,05	p>0,05
IgM, г/л	1,3 ±0,2	1,9 ±0,3	2,1± 0,2	p<0,01	p<0,01
IgGr, /л	12,1 ±0,3	14,9 ± 0,2*	13,1 ±0,1	p<0,01	p<0,01
ЦІК, у.о.	101,4 ±7,4	149,4 ±5,6*	129,6 ± 7,1	p<0,01	p<0,01

Примітка: Р- достовірність розличий показників здорових донорів і хворих на ХГС з генотипом HCV 1b; РТ - достовірність розлич HCV та показників здорових донорів і хворих на ХГС з генотипом HCV 3a; * - $p < 0,05$ в порівнянні з показниками хворих на ХГС з генотипом HCV 3a.

Співвідношення CD4+/CD8+, знижене у більшості хворих на ХГС незалежно від генотипу HCV, збільшувалася при вираженому фіброзі печінки (Ф4) у хворих HCV1b-інфекцією до рівня, що перевищує норму. Більш високий рівень ЦІК статистично значимо асоціювався з генотипом 1b($\text{г} = 0,79$; $\text{р} = 0,001$). Встановлено зворотний зв'язок між віком і концентрацією інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) у сироватці крові пацієнтів з генотипом HCV1b ($\text{г} = -0,47$; $\text{р} = 0,049$). Отримані дані вказують, що з віком у крові цих хворих підвищуються рівні CD3+($\text{г} = 0,65$; $\text{р} = 0,005$) і CD8+($\text{г} =$

$0,51$; $\text{р} = 0,015$) клітин, а також концентрація ($\text{г} = 0,54$; $\text{р} = 0,008$) при зниженні поглинальної здатності нейтрофілів і вмісту ІЛ-6. У групі хворих ХГС з генотипом вірусу За виявлено прямий зв'язок між віком і рівнем МК-клітин ($\text{г} = 0,36$; $\text{р} = 0,047$). Ці клітини беруть участь в ушкодженні інфікованих клітин печінки, і зростання їх числа може, по крайній мірі, частково відображати прогресування захворювання. У хворих з генотипом HCV 1b встановлено кореляційний зв'язок ступеня фіброзу з кількістю NKT-клітин ($\text{г} = 0,57$; $\text{р} = 0,02$), концентрацією ФНП-б ($\text{г} = 0,51$; $\text{р} = 0,021$) і рівнем ЦІК ($\text{г} = 0,74$; $\text{р} = 0,001$). У групі хворих HCV3a - інфекцією виявлено зворотний зв'язок ступеня фіброзу з числом СВ25 + лімфоцитів ($\text{г} = -0,47$; $\text{р} = 0,049$).

Рівень вірусного навантаження при ХГС з генотипом вірусу 1b корелював з числом CD25 + клітин та концентрацією інтерферону-г (ІФН-г) в крові. У той же час у хворих HCV3a - інфекцією підвищення вірусного навантаження супроводжується зниженням концентрації ЦІК і високим рівнем CD4 + клітин.

Проведене дослідження говорить в цілому про односторонні зміни імунологічних показників у хворих HCV1b-і HCV3a - інфекцією. Тим не менш, заслуговують на увагу деякі особливості імунного статусу, які можуть впливати на перебіг і вихід захворювання. Так, представляється примітним факт зростання співвідношення CD4+ / CD8+ у хворих з генотипом вірусу 1b при вираженому фіброзі, що може відображати не тільки стадію захворювання незалежно від субтипу HCV, а й особливості імунних зрушень, зокрема активацію клітинних цитотоксичних реакцій, у хворих з HCV1b - інфекцією що прогресує. У цих хворих, на відміну від пацієнтів з HCV3a - інфекцією, розвиток фіброзу було також асоційоване зі збільшенням числа NKT-клітин - субпопуляції лімфоцитів, поряд з цитотоксичними Т-лімфоцитами і NK-клітинами бере участь в лізисі інфікованих і змінених гепатоцитів.

Цікаво, що ступінь фіброзу у хворих з генотипом HCV За супроводжувалося не зростанням абсолютноого або відносного числа ефекторних клітин, а зниженням кількості CD25 + лімфоцитів, значна частина яких представлена Т-регуляторними клітинами.

Імовірно, при ХГС, викликаному HCV з генотипом 1b, в прогресуванні захворювання, зокрема в розвитку фіброзу пе-

чинки, більше значення має активація деяких ефекторних компонентів клітинного імунітету, тоді як при HCVЗа-інфекції - недостатність регуляторної ланки, що приводить до зриву периферичних механізмів імунної толерантності.

Про активацію клітинних Th1-залежних імунних реакцій при HCV1b-інфекції свідчить збільшення в сироватці крові концентрації ФНО-б паралельно з ростом ступеня фіброзу та ІФН-г паралельно з підвищеннем вірусного навантаження. Отримані данні, загалом, не суперечать результатам інших досліджень [6,7].

Висновки

1. Виявлення раніше невідомих клініко-імунологічних відмінностей у хворих ХГС, викликаним вірусом з генотипами 1b і За, наближає нас до розуміння патогенетичних особливостей цього захворювання залежно від субтипу HCV і є першим кроком до розробки методів диференціальної імунокоригуючої терапії.

2. Встановлений кореляційний зв'язок прогресування ХГС з деякими імунологічними показниками що дозволяє використовувати останні в якості додаткових діагностичних і прогностичних критеріїв, а також для оцінки ефективності лікування, що проводиться.

Література

1. Крель П.Е. Современные представления о терапии вирусных гепатитов. Общие принципы диагностики и терапии вирусных заболеваний печени / П.Е. Крель. - М. 2001. - С.27-41.
2. Нагоев Б.С. Хронические вирусные гепатиты: иммунопатогенетические, клинико-диагностические и терапевтические аспекты / Б.С.Нагоев, М.Т.Абидов, Ж.Б. Понежева. - Майкоп: ГРИПП "Адыгей", 2005. - 158 с.
3. Радченко В.Г. Оптимизация этиопатогенетической терапии хронического гепатита / В.Г.Радченко, В.В.Стельмах, В.К. Козлов. - С.- СПб, 2004. - 165 с.
4. Хроническая HCV-инфекция: современные иммуноморфологические аспекты / [Склар Л.Ф., Маркелова Е.В., Полушкин О.Г. и др. ; под ред. Каминского Ю.В.]. - М.: Изд-во РУДН; 2006. - 380 с.

5. Комплексная противовирусная терапия гепатита С : методические рекомендации / М.Х.Турьянов, О.В.Калюжин, М.В.Нелюбов [и др.]. - М.:РМАПО, 2004. - 48 с.

6. Afshal N.H. Evaluation of liver fibrosis: a concise review / N.H.Afshal, D.Nunes //Am. J. Gastroenterol. - 2004. - V. 99 (6). - P. 1160-1174.

7. Chang K.M. Immupathogenesis of hepatitis virus infection / K.M.Chang //Clin. Liver Dis. - 2003. - V. 7 (1). - P. 89-105.

Резюме

Понежева Ж.Б., Нагоев Б.С., Дубініна Н.В., Калюжин О.В. Клініко-імунологічні особливості хронічного гепатиту С в залежності від генотипу віруса.

Обстежено 146 хворих на хронічний гепатит С (ХГС), які проживають на території Кабардино-Балкарської Республіки. Встановлено домінуючі субтипу (За і 1b) вірусу гепатиту С (НСУ). Виявлено ключові клініко-імунологічні відмінності між хворими HCVЗа і HCV1b-інфекцією. Показана можливість застосування показників імунітету з метою оцінки динаміки і прогнозу перебігу ХГС.

Ключові слова: хронічний гепатит С, генотип За і 1b, імунопатогенез.

Резюме

Понежева Ж.Б., Нагоев Б.С., Дубинина Н.В., Калюжин О.В. Клинические особенности хронического гепатита С в зависимости от генотипу вируса.

Обследовано 146 больных хроническим гепатитом С (ХГС), проживающих на территории Кабардино-Балкарской Республики. Установлены преобладающие субтипы (За и 1b) вируса гепатита С (НСУ). Выявлены ключевые клинико-иммунологические различия между больными НСУЗа- и НСУ1b-инфекцией. Показана возможность применения показателей иммунитета с целью оценки динамики и прогноза течения ХГС.

Ключевые слова: хронический гепатит С, генотип За и 1b, иммунопатогенез.

Summary

Ponegeva G.B., Nagoev B.S., Dubinina N.V., Kalyugin O.V. Clinical and immunological features of chronic hepatitis C in dependence on to the genotype of virus.

146 patients resident in Kabardian-Balkar Republic with chronic hepatitis C (CHC) were included in the study. The predominant subtypes (3a and 1b) of hepatitis C virus (HCV) were identified. The main clinical and immunological distinctions of patients HCV3a and HCV1b infection were revealed. According to data obtained, some immunological indices can be used as diagnostic and prognostic criteria in CHC.

Key words: chronic hepatitis C, 3a and 1b genotype, immupathogenesis.

Рецензенти: д.мед.н., проф.І.В.Лоскутова
д.мед.н., проф.Я.А.Соцька