

**Бабак Сергій Іванович**, головний позаштатний анестезіолог, департамент охорони здоров'я, Київська обласна державна адміністрація;  
завідувач відділенням реанімації; КЗ КОР «КОКЛ», Київська обласна клінічна лікарня, вул. Баггавутівська, 1, м. Київ, Україна, 04107  
E-mail: highlander911@yandex.ru

УДК 616.36-002-022.6-092:612.017

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.48200

## ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПОКАЗНИКІВ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ ЗАЛЕЖНО ВІД РЕПЛІКАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ ТА ГЕНОТИПУ ВІРУСУ ГЕПАТИТУ С

© О. В. Гололобова

*Дослідження клітинних та гуморальних імунних показників, цитокінів у хворих на HCV-інфекцію при підтвердженій реплікативній активності вірусу виявило вірогідне зниження клітинних факторів, імунорегуляторного індексу (IRI), рівнів інтерферону-гама (IFN- $\gamma$ ), інтерлейкіну-2 (IL-2), що одночасно супроводжується вірогідною гіперпродукцією гуморальних факторів, фактору некрозу пухлин –  $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ), інтерлейкіну-4 (IL-4) та інтерлейкіну-10 (IL-10). При генотипі 3a вірусу гепатиту С (HCV) спостерігається перевага клітинних факторів імунної системи, а 1b – гуморальних*

**Ключові слова:** гострий гепатит С, хронічний гепатит С, цитокіни, субпопуляції лімфоцитів, генотип

**Aim.** To analyze the character of changes and disorders of immune system with the help of complex study of indicators of cellular and humor section of immunity, cytokine status in patients with HCV-infection taking into account the replicative activity, genotype of virus and to formulate the possible causes of chronization.

**Methods.** There were examined 155 patients with HCV-infection. An acute hepatitis C (AHC) was fixed in 23,9 %, chronic hepatitis C (CHC) – in 76,1 %, 18–70 years old. Among examined patients with AHC and CHC prevailed men (67,6 and 72 % respectively). Diagnosis was set on the base of clinic and anamnestic, epidemiologic, laboratory and instrumental data. Epidemiologic verification of diagnosis was realized by detection the specific serologic markers of HC (anti-HCV (sum), anti-HCV IgM and Ig G, anti-HCV core and anti-HCV NS-3, NS-4, NS-5) in blood serum using ELISA method. Molecular and genetic studies that included definition of replicative activity of HCV evaluated on the base of detection of RNA HCV in blood serum using the qualitative PCR method were carried out in 126 patients (31 with AHC and 95 with CHC). At the same time RNA of HCV was detected in peripheral blood in all (31) patients with AHC and in 74 (77,89 %) patients with CHC. Using the method of restriction analysis we carried out the genetic typing of HCV in 90 patients with AHC and 60 with CHC. We carried out the comparative characteristics of the content of immunologic indicators in 45 (75 %) patients with CHC with positive and 15 (25 %) patients with negative results of PCR-study (polymerase chain reaction) of HCV RNA in blood. For detection of regularities of changes of immune status depending on virus genotype there was carried out the comparative assessment of the content of immunologic indicators in patients with AHC and CHC with the most widespread genotypes of HVC – 1b and 3a. Immunologic studies included the definitions of the main subpopulations of lymphocytes (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+, CD25+), the general number of immunoglobulins Ig A, M, G, CIC (circulating immune complexes) and cytokine levels (CK) (TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-10, IFN- $\gamma$ ) in blood serum. The features of immune status with definition of qualitative and quantitative content of its indicators were analyzed depending on presence of molecular and genetic markers of replication activity and HCV genotype in blood of patients

**Results.** RNA of HCV were detected in peripheral blood of patients with AHC (100%) and CHC (77,89 %). HCV 1b genotype turned out the most widespread among patients with both AHC (50%), and CHC (43,3 %). 3a genotype – in 30 % and 38,3 % patients with AHC and CHC respectively took the second place. In patients with AHC the combination 1b/3a and 2 genotypes of HCV were equally often – in 10 % of patients respectively. The combination 1a/3a and isolated 1a genotype was not detected in patients with AHC. In patients with CHC the combination 1b/3a was detected in 6,7 %. 1a/3a and 3a genotypes combinations were registered equally often (5,0 %). 2 genotype was observed rather random – in 1,7 % patients with CHC. In patients with HCV(RNA+) in blood the relative and absolute number of lymphocytes with phenotypes CD3+; CD4+; CD16+; CD25, IRI were probably lower compared with analogous indicators in patients with negative results of PCR ( $p < 0,05$ ). On the contrary the content of circulating immune complexes CD20+ lymphocytes, concentration of Ig M and Ig G were probably higher in blood of patients with CHC with positive result of HCV-RNA compared with ones in patients with negative result of HCV RNA study ( $p < 0,05$ ). The probable ( $p < 0,05$ ) increase of CD3+; CD4+ indicators, CD16+; CD25+ circulating complexes were intrinsic for patients with AHC and 3a genotype compared with analogous indicators in patients with CHC and 1b genotype. The content of CD20+ lymphocytes, circulating immune complexes, IgM, IgG,

was on the contrary probably higher in patients with 1b genotype as opposed to such indicators in patients with 3a genotype. At chronic clinical course of HCV-infection there was observed an analogous dependence of content of immunologic indicators from detected genotype. In patients with 3a genotype the mean indicators CD3+, CD4+, CIC, CD16+, CD25+ were probably higher than the respective ones in patients with 1b genotype. In patients with CHC and HCV 1b genotype indicators CD20+, circulating immune complexes (CIC); Ig M; Ig G probably exceeded analogous indicators in patients with HCV 3a genotype ( $p < 0,05$ ). The comparative analysis of cytokine status in patients with CHC with positive and negative result of the study of presence of HCV-RNA in blood of patients with CHC demonstrated that in the period of replicative activity of HCV (RNA+) the level of IFN- $\gamma$  and IL-2 turned out probably lower compared with ones in patients with negative result of the study of HCV-RNA (RNA-) ( $p < 0,05$ ). On the contrary in patients with PCR + the levels of TNF- $\alpha$ , IL-4 and IL-10 were reliably higher compared with ones in patients with the lack of replicative activity. In the blood serum of patients with AHC of 3a genotype of concentration IL-2 and IFN- $\gamma$  were probably higher compared with analogous indicators in patients with 1b genotype ( $p < 0,05$ ). An opposite regularity was retraced at analysis of TNF $\alpha$ , IL-4 and IL-10 data, its levels in patients with 3a genotype were probably lower than indicators in patients with 1b one ( $p < 0,05$ ). IL-2 and IFN- $\gamma$  concentrations in patients with 1b genotype were essentially decreased compared with patients with 3a genotype ( $p < 0,05$ ). At the same time the TNF- $\alpha$ , IL-4 and IL-10 levels in patients with 1b genotype considerably exceeded the analogous indicators in patients with 3a genotype ( $p < 0,05$ ).

**Conclusions.** At AHC and CHC there were observed the same directional dependence of the content of immunologic indicators from detected genotype. So in patients with AHC and CHC with 3a genotype CD3+, CD4+, IRI, CD16+, CD25+, IL-2 and IFN- $\gamma$  levels were probably higher and CD20+, CIC, Ig M, Ig G, TNF- $\alpha$ , IL-4 and IL-10 decreased compared with respective indicators in patients with HCV 1b genotype. So in patients with 3a genotype indicators that characterize Th1-effector potential were probably higher that testifies an activation of cellular immune answer. In patients with 1b genotype there was observed a depression of cellular section of immunity and by-turn the higher content of indicators that characterize an activity of Th2-effectors that leads to switching of immune answer to humor Th2-answer

**Keywords:** acute hepatitis C, chronic hepatitis C, cytokines, subpopulations of lymphocytes, genotype

## 1. Вступ

Ефективність та тип імунного реагування на HCV-інфекцію визначається активністю клітинної та гуморальної ланок імунітету, які регулюються через продукцію імунокомпетентними клітинами, зокрема Th1 і Th2, відповідних цитокінів (ЦК), які, в свою чергу, регулюють характер, глибину й тривалість імунної відповіді організму на HCV. Дисбаланс у системі цитокінового регуляторного ланцюга – ключова ланка імунних порушень при захворюваннях печінки [1–5]. Ідентифікація генотипів HCV, як відомо, має велике значення в клінічній практиці, оскільки різні генотипи HCV пов'язують з особливостями перебігу ГС та різною відповіддю на етіотропну терапію. Крім того, різні генотипи HCV мають індивідуальне географічне розповсюдження, що дозволяє спостерігати за епідеміологічною картиною поширення HCV-інфекції [6, 7].

## 2. Обґрунтування дослідження

Відомо, що ефективність противірусного імунітету пов'язана, в першу чергу, з активністю клітинної ланки імунітету, яка регулюється переважно Th1 шляхом продукції відповідних ЦК. При цьому результати оцінки профілю ЦК при ГС неоднозначні [8, 9]. Імунологічні порушення при ГС відбуваються, в основному, за рахунок функціонального дисбалансу між клітинною та гуморальною ланками імунітету. Клітинну відповідь активують Th1 (т-хелпер 1), гуморальну – Th2 (т-хелпер 2) лімфоцити. Активація та диференціація Th1 відбувається під впливом патогену. Існує думка, що тільки розвиток сильної та довготривалої Т-клі-

тинної відповіді з перевагою ЦК, характерних для Th1 (IFN  $\gamma$ , IL-2), а також активацією ефektorних ЦТЛ, а також NK може призвести до припинення інфекційного процесу при HCV-інфекції. Якщо в результаті протидії вірусу організму людини не вдається реалізувати противірусну стратегію, то баланс Th1/Th2 зміщується до боку субпопуляції Th2 із перевагою характерних для неї ЦК–IL-4, – 10, що призводить до довготривалої персистенції збудника з розвитком хронізації та прогресування ГС [10–16]. Серед дослідників найбільш поширена думка, що при обґрунтуванні етіотропної терапії існує необхідність посилення впливу Th1 в цілях досягнення розвитку більш ефективного противірусного імунітету. Проте розглядати однозначно як позитивний факт переважну активацію Th1 не можна у зв'язку з доведеним значенням саме цих реакцій у механізмах пошкодження печінки [14–16].

Незважаючи на велику кількість публікацій, які стосуються різних аспектів вивчення HCV – інфекції, механізми прогресування ГС на сьогодні залишаються недостатньо вивченими. Суперечливість результатів досліджень підкреслює відсутність єдиної думки, яка дозволила би сформулювати закономірну модель взаємозв'язків між показниками імунного гомеостазу в умовах антигенної стимуляції HCV. Не дивлячись на велику кількість досліджень, присвячених ролі окремих показників імунної відповіді в патогенезі ГС [4, 5, 9–16] неможливо виявити узагальнюючу картину взаємодій імунокомпетентних клітин і ЦК при даній патології. Результати досліджень концентрацій ЦК в сироватці, характеризуючих системну реакцію організму, досить суперечливі. У зв'язку з цим, необхідно засто-

совувати комплексний підхід до вивчення механізмів функціонування окремих ланок системи захисту, що дозволить оцінити характер реагування імунної системи більш широко і детально, це необхідне для пошуку методів терапії, здатної вплинути на перебіг хвороби і її результати в умовах персистенції HCV-інфекції. Для оцінки стану імунного балансу в організмі необхідно одночасно досліджувати рівні декількох медіаторів, що характеризують як клітинну так і гуморальну ланку імунітету. Враховуючи вищевказане, дизайн проведеного дослідження включав: оцінку показників імунограми: якісного та кількісного субпопуляційного складу лімфоцитів периферичної крові, ЦІК, Іg класів А, М, G та цитокінового статусу із визначенням в крові рівнів прозапального ЦІК ФНП- $\alpha$ , регуляторних ЦІК, які продукуються Th1: ІФН- $\gamma$  і ІЛ-2, а також протизапальних ЦІК, які продукуються Th2: ІЛ 4, ІЛ 10 у хворих на ГГС та ХГС залежно від виявленого генотипу вірусу, та при різних станах, характеризуючи реплікативну активність вірусу-наявністю або відсутністю РНК HCV у крові хворих, підтверджених методом ПЛР. Певний інтерес представляє аналіз стану систем імунітету та роль клітинної та гуморальної ланок, цитокінової регуляції при ГГС та ХГС, взаємозв'язок імунологічних показників та клінічних проявів захворювання, із генотипом вірусу та його реплікативною активністю, виявляючи можливі імунологічні критерії прогнозування HCV-інфекції, а також значення показників імунної відповіді, як факторів, що визначають клінічний перебіг, прогноз та ефективність лікування.

### 3. Мета роботи

Проаналізувати характер змін та порушень імунної системи за допомогою комплексного дослідження показників клітинної та гуморальної ланок імунітету, цитокінового статусу у хворих на HCV-інфекцію з урахуванням реплікативної активності, генотипу вірусу та сформулювати при цьому, можливі причини хронізації.

### 4. Матеріали та методи дослідження

Обстежений 155 хворих на HCV-інфекцію, серед них гострий гепатит с (ГГС) встановлено у 23,9 %, хронічний гепатит С (ХГС) – 76,1 %, віком від 18 до 70 років, які перебували на стаціонарному лікуванні в обласній клінічній інфекційній лікарні м. Харкова. Серед обстежених хворих на ГГС та ХГС переважали особи чоловічої статі (67,6 та 72 % відповідно), середній вік склав (30,5 $\pm$ 2,2 і 33,8 $\pm$ 1,1 років відповідно). Діагноз встановлювали на підставі клініко-анамнестичних, епідеміологічних, лабораторних та інструментальних даних. Етіологічну верифікацію діагнозу здійснювали виявленням у сироватці крові специфічних серологічних маркерів ГС (анти-HCV (сум), анти-HCV IgM і Ig G, анти-HCV core та анти-HCV NS-3, NS-4, NS-5) методом ІФА. Клініко-патогенетичні варіанти перебігу, форму та ступінь тяжкості ГС визначали згідно із загальноприйнятими в клінічній практиці критеріями (МКХ-10). Діагноз ХГ встановлювали відповідно до сучасної міжнародної класифікації хвороб

печінки (1994). Молекулярно-генетичні дослідження були проведені у 126 хворих (31 на ГГС та 95 на ХГС), які включали визначення реплікативної активності HCV, яку оцінювали на підставі виявлення в сироватці крові РНК HCV якісним методом ПЛР. При цьому РНК HCV визначалася в периферичній крові у всіх (31) хворих на ГГС та у 74 (77,89 %) хворих на ХГС. Методом рестрикційного аналізу, нами було проведено генотипування HCV у 90 хворих, серед яких було 30 хворих на ГГС та 60 на ХГС. Молекулярно-генетичні дослідження включали визначення реплікативної активності HCV на підставі виявлення в сироватці крові РНК HCV методом ПЛР за допомогою тест-систем виробництва НВФ “Литех” (Росія). Генотипування HCV методом рестрикційного аналізу здійснювали за допомогою тест-систем “Амплиценс” (Росія). Імунологічні дослідження включали визначення основних субпопуляцій лімфоцитів (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD20<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>), загальної кількості Іg А, М, G, ЦІК та рівнів цитокінів (ФНП- $\alpha$ , ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-10, ІФН- $\gamma$ ) у сироватці крові. Основні субпопуляції лімфоцитів периферичної крові визначали методом імунофлюоресцентної мікроскопії з використанням набору моноклональних та поліклональних АТ для визначення диференційних АГ лімфоцитів людини виробництва ООО „Сорбент” (Росія) відповідно до інструкції виробника. Для дослідження вмісту Іg А, М, G в сироватці крові застосовували метод простої радіальної імунодифузії в гелі. Концентрацію ЦІК в крові хворих визначали за методикою Діжона. Для визначення рівнів ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-10, ІФН- $\gamma$  в сироватці крові використовували тест-системи ООО “Протеиновый контур” (Росія), а для ФНП- $\alpha$  – ООО “Цитокин” (Росія), користуючись інструкцією виробника. Статистична обробка результатів дослідження була здійснена за допомогою Microsoft Excel 2007 (ліц. № RW2FR-7DFDD-TCF8J-9K9BJ-MJ678) на комп'ютері Pentium II Celeron 850 PPGA.

### 5. Результати досліджень

В результаті аналізу отриманих даних встановлено наявність 4 генотипів HCV та різні варіанти їх комбінації. Генотип HCV 1b виявився найбільш поширеним як серед хворих на ГГС (50 %), так і ХГС (43,3 %). Друге місце за частотою зустрічальності зайняв генотип 3a, який виявився у 30 % та 38,3 % хворих відповідно. При гострому перебігу ГС з однаковою частотою зустрічалися комбінація 1b/3a та 2 генотипи HCV – у 10 % хворих відповідно. У групі хворих на ХГС комбінація 1b/3a виявлялась у 6,7 %, 2 генотип зустрічався досить рідко (1,7 %), з однаковою частотою (5,0 %) виявлялися комбінації 1a/3a та 3a генотипи відповідно.

Порівняльний аналіз субпопуляційного складу лімфоцитів крові, концентрації Іg, ЦІК у хворих на ХГС із позитивним та негативним результатом визначення HCV-РНК у крові показав, що в період реплікативної активності HCV (HCV РНК «+») відносна та абсолютна кількість лімфоцитів із фенотипами CD3<sup>+</sup> (53,6 $\pm$ 1,3 % та 1,07 $\pm$ 0,03 $\times$ 10<sup>3</sup>/мкл); CD4<sup>+</sup> (28,5 $\pm$ 1,3 % та 0,57 $\pm$ 0,02 $\times$ 10<sup>3</sup>/мкл); CD16<sup>+</sup> (9,02 $\pm$ 0,36 % та 0,18 $\pm$ 0,01 $\times$ 10<sup>3</sup>/мкл); CD25<sup>+</sup> (10,48 $\pm$ 0,35 % та 0,2 $\pm$

$\pm 0,01 \times 10^3$ /мкл), IPI ( $1,15 \pm 0,05$ ) виявилися вірогідно нижчими порівняно з аналогічними показниками у пацієнтів з негативним результатом ПЛР [CD3<sup>+</sup> ( $65,99 \pm 1,9$  % та  $1,35 \pm 0,04 \times 10^3$ /мкл); CD4<sup>+</sup> ( $35,07 \pm 1$  % та  $0,71 \pm 0,02 \times 10^3$ /мкл); CD16<sup>+</sup> ( $12,47 \pm 0,42$  % та  $0,26 \pm 0,03 \times 10^3$ /мкл); CD25<sup>+</sup> ( $13,27 \pm 0,694$  % та  $0,27 \pm 0,02 \times 10^3$ /мкл); IPI ( $1,35 \pm 0,07$ ) відповідно] ( $p < 0,05$ ). Навпаки, вміст ЦІК ( $17,00 \pm 0,59$  од), відносних та абсолютних показників CD20<sup>+</sup>-лімфоцитів ( $21,9 \pm 0,38$  % та  $0,45 \pm 0,04 \times 10^3$ /мкл), концентрація Ig M ( $1,7 \pm 0,12$  г/л) та Ig G ( $18,3 \pm 0,64$  г/л) виявилися вірогідно вищими у крові хворих на ХГС із позитивним результатом HCV-РНК порівняно з такими у хворих із негативним результатом дослідження HCV РНК [ЦІК ( $14,21 \pm 0,52$  од); CD20<sup>+</sup> ( $17,7 \pm 0,34$  % та  $0,33 \pm 0,03 \times 10^3$ /мкл); Ig M ( $1,2 \pm 0,2$  г/л); IgG ( $16,1 \pm 0,46$  г/л)] ( $p < 0,05$ ). Для визначення особливості імунного статусу залежно від генотипу HCV проводився порівняльний аналіз вмісту імунологічних показників у хворих на ГГС та ХГС, у яких за результатами генотипування вірусу були виявлені найбільш поширені генотипи HCV – 1b та 3a. Для хворих на ГГС, у яких був виявлений генотип 3a, характерним було вірогідне ( $p < 0,05$ ) підвищення показників CD3<sup>+</sup> ( $62,56 \pm 0,7$  % та  $1,39 \pm 0,03 \times 10^3$ /мк); CD4<sup>+</sup> ( $37,22 \pm 0,68$  % та  $0,79 \pm 0,01 \times 10^3$ /мк); IPI ( $1,30 \pm 0,07$ ); CD16<sup>+</sup> ( $18,22 \pm 0,28$  % та  $0,39 \pm 0,03 \times 10^3$ /мк); CD25<sup>+</sup> ( $25,56 \pm 0,42$  % та  $0,52 \pm 0,05 \times 10^3$ /мк) порівняно з аналогічними показниками у пацієнтів з генотипом 1b [CD3<sup>+</sup> ( $58,6 \pm 0,56$  % та  $1,27 \pm 0,04 \times 10^3$ /мк); CD4<sup>+</sup> ( $30,04 \pm 0,52$  % та  $0,68 \pm 0,03 \times 10^3$ /мк); IPI ( $1,01 \pm 0,05$ ); CD16<sup>+</sup> ( $14,35 \pm 0,21$  % та  $0,3 \pm 0,02 \times 10^3$ /мк); CD25<sup>+</sup> ( $16,83 \pm 0,68$  та  $0,36 \pm 0,04$ ). Вміст CD20<sup>+</sup>-лімфоцитів, ЦІК, IgM, IgG, навпаки, вірогідно вищий був у хворих із генотипом 1b [CD20<sup>+</sup> ( $23,73 \pm 0,29$  % та  $0,47 \pm 0,03 \times 10^3$ /мк); ЦІК ( $16,25 \pm 0,3$  од); Ig M ( $2,5 \pm 0,12$  г/л); Ig G ( $15,42 \pm 1,20$  г/л)] на відміну від таких показників у хворих з генотипом 3a [CD20<sup>+</sup> ( $16,34 \pm 0,25$  % та  $0,33 \pm 0,01$ ); ЦІК ( $12,6 \pm 0,7$  од); Ig M ( $1,88 \pm 0,05$  г/л); Ig G ( $10,68 \pm 0,57$  г/л)] ( $p < 0,05$ ). При хронічному перебігу HCV-інфекції спостерігалась аналогічна залежність вмісту імунологічних показників від виявленого генотипу. Так, у хворих з генотипом 3a середні показники CD3<sup>+</sup> ( $65,9 \pm 1,8$  % та  $1,39 \pm 0,03 \times 10^3$ /мк); CD4<sup>+</sup> (% та  $0,59 \pm 0,03 \times 10^3$ /мк); IPI ( $1,17 \pm 0,06$ ); CD16<sup>+</sup> ( $12,65 \pm 0,22$  % та  $0,24 \pm 0,02 \times 10^3$ /мк); CD25<sup>+</sup> ( $12,5 \pm 0,6$  % та  $0,24 \pm 0,02 \times 10^3$ /мк) із статистичною вірогідністю були вищими за відповідні показники хворих із генотипом 1b [CD3<sup>+</sup> ( $56,2 \pm 1,5$  % та  $1,28 \pm 0,04 \times 10^3$ /мк); CD4<sup>+</sup> ( $22,15 \pm 0,82$  % та  $0,44 \pm 0,04 \times 10^3$ /мк); IPI ( $0,93 \pm 0,04$ ); CD16<sup>+</sup> ( $8,7 \pm 0,34$  % та  $0,17 \pm 0,03 \times 10^3$ /мк); CD25<sup>+</sup> ( $8,09 \pm 0,49$  % та  $0,13 \pm 0,01 \times 10^3$ /мк)] ( $p < 0,05$ ). У хворих на ХГС із генотипом HCV 1b показники CD20<sup>+</sup> ( $20,15 \pm 0,3$  % та  $0,46 \pm 0,04 \times 10^3$ /мк); ЦІК ( $17,36 \pm 0,5$  од); Ig M ( $1,97 \pm 0,05$  г/л); Ig G ( $19,2 \pm 0,57$  г/л) вірогідно перевищували аналогічні показники хворих із генотипом HCV 3a [CD20<sup>+</sup> ( $15,85 \pm 0,4$  % та  $0,31 \pm 0,02 \times 10^3$ /мк); ЦІК ( $14,62 \pm 0,4$  од); Ig M ( $1,68 \pm 0,08$  г/л); Ig G ( $15,63 \pm 0,44$  г/л)], ( $p < 0,05$ ).

Порівняльний аналіз змісту ЦІК у хворих на ХГС із позитивним та негативним результатом дослідження на наявність HCV-РНК у крові хворих на ХГС, показав, що в період реплікативної активності HCV рівні ІФН- $\gamma$  ( $10,37 \pm 0,52$  пкг/мл) та ІЛ-2 ( $20,6 \pm 2,10$  пкг/мл) виявилися вірогідно нижчими порівняно з такими у пацієнтів з негативним результатом дослідження HCV-РНК ( $19,84 \pm 1,42$  пкг/мл та  $32,65 \pm 3,21$  пкг/мл) ( $p < 0,05$ ). Навпаки, у хворих із наявністю реплікативної активності середні рівні ФНП- $\alpha$  ( $48,78 \pm 2,75$  пкг/мл), ІЛ-4 ( $65,49 \pm 2,19$  пкг/мл) та ІЛ-10 ( $82,03 \pm 5,55$  пкг/мл) виявилися вірогідно вищими порівняно такими у хворих із відсутністю реплікативної активності ( $35,33 \pm 1,29$  пкг/мл;  $51,38 \pm 2,29$  пкг/мл та  $59,06 \pm 3,7$  пкг/мл відповідно) ( $p < 0,05$ ).

Аналізуючи показники цитокинового профілю залежно від виявленого генотипу HCV, встановлено, що у сироватці крові хворих на ГГС із генотипом 3a концентрації ІЛ-2 ( $196,7 \pm 12,36$  пкг/мл) та ІФН- $\gamma$  ( $138,8 \pm 7,71$  пкг/мл) були вірогідно підвищеними порівняно з аналогічними показниками хворих із генотипом 1b ( $97,07 \pm 9,32$  та  $84,62 \pm 12,64$  пкг/мл) ( $p < 0,05$ ). Протилежна закономірність простежувалась при аналізі даних ФНП- $\alpha$ , ІЛ-4 та ІЛ-10, рівні яких у хворих з генотипом 3a [ $45,94 \pm 1,74$  пкг/мл;  $19,67 \pm 0,91$  пкг/мл;  $25,83 \pm 0,62$  пкг/мл] були вірогідно нижчими за показники хворих із генотипом 1b [відповідно  $61,48 \pm 4,33$  пкг/мл;  $28,68 \pm 1,14$  пкг/мл;  $35,93 \pm 1,38$  пкг/мл] ( $p < 0,05$ ). Концентрації ІЛ-2 та ІФН- $\gamma$  у хворих із генотипом 1b ( $15,69 \pm 0,84$  пкг/мл;  $8,96 \pm 0,55$  пкг/мл) були суттєво зниженими порівняно з хворими, у яких виявлений генотип 3a ( $36,43 \pm 2,54$  пкг/мл;  $17,58 \pm 0,89$  пкг/мл) ( $p < 0,05$ ). Поряд із цим, рівні ФНП- $\alpha$ , ІЛ-4 та ІЛ-10 у хворих з генотипом 1b ( $43,51 \pm 0,58$  пкг/мл;  $63,9 \pm 3,57$  пкг/мл;  $93,35 \pm 4,74$  пкг/мл, відповідно) значно перевищували аналогічні показники у хворих із генотипом 3a ( $34,08 \pm 0,34$  пкг/мл;  $39,78 \pm 2,53$  пкг/мл;  $70,86 \pm 3,62$  пкг/мл) ( $p < 0,05$ ).

## 6. Обговорення результатів дослідження

Результати генотипування РНК HCV свідчать про переважне поширення у хворих на HCV-інфекцію генотипів 1b, 3a та їх можливу асоціацію. Аналізуючи отримані дані стосовно субпопуляційного складу лімфоцитів у хворих на ГГС з генотипами 1b та 3a була виявлена наступна закономірність.

Було виявлено, що в периферичній крові хворих як на ГГС так і ХГС, у яких встановлений генотип HCV 3a, спостерігається вірогідне підвищення імунологічних показників, які відображають стан клітинної ланки імунітету (субпопуляції лімфоцитів із фенотипом CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, IPI, CD16<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>) порівняно з такими у хворих з генотипом 1b. Крім того, у хворих з генотипом 1b відмічалася більш виражена активність гуморальної ланки імунної системи, що, в свою чергу, характеризується, підвищенням в сироватці крові хворих лімфоцитів із фенотипом CD20<sup>+</sup>, ЦІК, IgM, IgG) ( $p < 0,05$ ). Таким чином, отримані результати свідчать про імунологічні порушення у хворих на HCV-інфекцію та певну різноспрямованість імунної відповіді

при гострому та хронічному перебігу захворювання. У хворих на HCV-інфекцію недостатність клітинного імунітету, поєднувалася з активацією гуморальної ланки імунної відповіді. Прогресуючий характер імунологічних порушень від стадії ГГС до ХГС вказує на формування вторинного клітинного імунодефіциту та залежність активації патологічного процесу від виразності імунної недостатності. Більш виражені порушення імунологічних показників як кількісного так і якісного характеру були виявлені у хворих на ХГС. Для хворих на ХГС при наявності РНК вірусу в крові характерно вірогідне зниження клітинних факторів та рівнів ФНП- $\alpha$ , ІФН- $\gamma$ , ІЛ-2, що одночасно супроводжується в підвищенням продукції гуморальних факторів імунної системи, а також ІЛ-4 та ІЛ-10. Це свідчить про слабку клітинну імунну відповідь, що, можливо, сприяє тривалій циркуляції, активній реплікації вірусу, що спостерігається при хронічному перебігу HCV-інфекції. Отже, підводячи підсумки даних стосовно вмісту показників імунного гомеостазу в периферичній крові хворих із різними генотипами HCV, встановлено, що при ГГС та ХГС спостерігалась однаково спрямована залежність вмісту імунологічних показників від виявленого генотипу. Так, у хворих на ГГС та ХГС із генотипом 3а рівні CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, IPI, CD16<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, ІЛ-2 та ІФН- $\gamma$  були вірогідно вищими, а CD20<sup>+</sup>, ЦК, Ig M, Ig G, ФНП- $\alpha$ , ІЛ-4 та ІЛ-10 зниженими порівняно з відповідними показниками хворих із генотипом HCV 1b. Таким чином, у хворих із генотипом 3а вірогідно вищими виявилися показники, які характеризують Th1-ефекторний потенціал, що свідчить про активацію клітинної імунної відповіді. У хворих з генотипом 1b спостерігається депресія клітинної ланки імунітету, і, в свою чергу, більш високий зміст показників, які характеризують активність Th2-ефекторів, що призводить до переключення імунної відповіді у бік гуморальної, Th2-відповіді. Останній процес, як відомо з літературних даних і підтверджено результатами нашого дослідження, сприяє збереженню активної реплікації вірусу. Можливо, саме дисбаланс вмісту імунорегуляторних показників та ЦК лежить в основі імуносупресивних та «агресивних» властивостей генотипу HCV 1b та високої частоти хронізації інфекційного процесу при даному генотипі HCV, що і визначає основну перспективу для подальших досліджень у цьому напрямку.

## 7. Висновки

Імунний статус хворих на ХГС при реплікативній активності збудника, підтвердженій виявленням HCV-РНК у крові, характеризується вірогідним зниженням клітинних факторів, IPI, рівнів ІФН- $\gamma$ , ІЛ-2, що одночасно супроводжується вірогідним підвищенням продукції гуморальних факторів імунної системи, а також ФНП- $\alpha$ , ІЛ-4 та ІЛ-10. У хворих на ГГС та ХГС з генотипом 3а HCV спостерігається перевага клітинних факторів імунної системи, а з генотипом 1b – гуморальних.

## Література

1. Возианова, Ж. И. Экспресс-определение некоторых маркеров вирусных гепатитов В и С [Текст] / Ж. И. Во-

зианова, О. А. Голубовская, Н. Ч. Корчинский // Лаб. диагностика. – 2005. – № 4. – С. 56–57.

2. Малый, В. П. HCV – инфекция (острая и хроническая) [Текст] / В. П. Малый. – К., 2005. – 292 с.

3. Ершова, О. Н. Эпидемиология HCV – инфекции [Текст] / О. Н. Ершова, И. В. Шахильян // Гепатологический форум. – 2006. – № 1. – С. 6–9.

4. Бацков, С. С. К вопросу об особенностях и взаимосвязи изменений кариотипа лимфоцитов периферической крови и иммунного статуса у больных хроническим вирусным гепатитом С [Текст] / С. С. Бацков, С. Н. Колубаева, В. Н. Акимов // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2005. – № 2. – С. 51–56.

5. Bowen, D. Adaptive immune responses in acute and chronic hepatitis C virus infection [Text] / D. G. Bowen, C. M. Walker // Nature. – 2005. – Vol. 436, Issue 7053. – P. 946–952. doi: 10.1038/nature04079

6. Слепцова, С. С. Вирусные гепатиты, как основные факторы формирования цирроза и первичного рака печени в республике Саха-Якутия [Текст] / С. С. Слепцова, А. Г. Рахманова, Т. Т. Бугаева // ВИЧ-инфекции и иммуносупрессии. – 2012. – № 2. – С. 109–116.

7. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection [Text]. – Journal of Hepatology. – 2011. – Vol. 55, Issue 2. – P. 245–264. doi: 10.1016/j.jhep.2011.02.023

8. Дегтярева, И. И. Хронические вирусные гепатиты [Текст] / И. И. Дегтярева, И. Н. Скрыпник // Здоровье Украины. – 2000. – № 9. – С. 27–30.

9. Маммаев, С. Н. Продукция цитокинов у больных хроническим вирусным гепатитом С на фоне терапии интерфероном [Текст] / С. Н. Маммаев, Е. А. Лукина // Клин. Лаб. Диагностика. – 2002. – № 8. – С. 45–48.

10. Ивашкин, В. Т. Механизмы иммунного «ускользания» при вирусных гепатитах [Текст] / В. Т. Ивашкин, С. Н. Маммаев, А. О. Буеверов // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2000. – № 5. – С. 7–13.

11. Ивашкин, В. Т. Особенности иммунного ответа у больных хроническим вирусным гепатитом С [Текст] / В. Т. Ивашкин, С. Н. Маммаев, А. Е. Лукина // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2001. – № 3. – С. 24–29.

12. Wedemeyer, H. Immunopathogenesis and treatment of hepatitis C [Text] / H. Wedemeyer, M. Cornberg, M. Manns. – Liver Immunology, 2003. – P. 223–248.

13. Красавцев, Е. Л. Уровень некоторых цитокинов и антител к вирусу гепатита С у больных хроническим гепатитом С [Текст] / Е. Л. Красавцев, В. М. Мицура, С. В. Жаворонок // Журн. микробиол. – 2005. – № 5. – С. 103–105.

14. Семенов, Т. А. Иммунологические показатели эффективности лечения хронического гепатита С [Текст] / Т. А. Семенов // Вирусные гепатиты: достижения и перспективы. – 2005. – № 1. – С. 3–9.

15. Собчак, Д. М. Оценка показателей цитокинового спектра у больных гепатитом С при лечении препаратами интерферона –  $\alpha$  [Текст] / Д. М. Собчак, О. В. Корочкина, Э. А. Монакова // Тер. Архив. – 2005. – № 2. – С. 70–72.

16. Скляр, Л. Ф. Ронколейкин в лечении хронических вирусных гепатитов [Текст] / Л. Ф. Скляр // Эпидем. и инфекционн. болезни. – 2005. – № 2. – С. 28–32.

## References

1. Vosianova, G., Golubovskaya, O., Korchinskiy N. Ch. (2005). Express-opredelenie некоторых markerov virusnih hepatitov B I C [Rapid determination of some of the markers of viral hepatitis B and C]. Laboratory diagnosis, 4, 56–57.
2. Mal'yi, V. (2005). HCV-infekciya (ostraya I hronicheskaya) [HCV-infection (acute and chronic)] Kyiv, 292.
3. Ershova, O., Shahildyan, I. V. (2006). Epidemiologiya HCV-infekcii [Epidemiology of HCV infection]. Hepatological forum, 1, 6–9.
4. Backov, S., Kolubaeva, N., Akimov, N. V. (2005). K voprosu ob osobennostyah ismeneniya kariotipa limfocitov perifericheskoy krovi I immunnogo statusa u bolnih hronicheskimi virusnim hepatitom [To the question about the features and interrelations of changes in the karyotype of peripheral blood lymphocytes and immune status in patients with chronic viral hepatitis]. Russian journal of gastroenterology, Hepatology, Coloproctology, 2, 51–56
5. Bowen, D. G., Walker, C. M. (2005). Adaptive immune responses in acute and chronic hepatitis C virus infection. Nature, 436 (7053), 946–952. doi: 10.1038/nature04079
6. Slepčova, S., Rahmanova, A., Bugaeva, T. (2012). Virusnie hepatiti kak osnovnie faktori formirovaniya cirroza i pervichnogo raka pečeni v respublike Saha-Yakutiya. [Viral hepatitis as the major drivers for the development of cirrhosis and primary liver cancer in the Republic of Sakha-Yakutia]. HIV infection and immunosuppression, 2, 109–116.
7. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection (2011). Journal of Hepatology, 55 (2), 245–264. doi: 10.1016/j.jhep.2011.02.023
8. Degtyariyova, I., Skripnik, I. (2000). Hronicheskie hepatiti. [Chronic viral hepatitis]. Health of Ukraine, 9, 27–30.
9. Mammaev, S., Lukina, A. (2002). Produkciya citokinov u bolnih hronicheskimi virusnim hepatitom c na fone terapii interferonom. [Cytokine production in patients with chronic hepatitis C during interferon therapy]. Clinical Laboratory Diagnostics, 8, 45–48.
10. Ivashkin, V., Mammaev, S., Bueverov, A. (2000). Mechanisms immunnogo uskolsaniya pri virusnih hepatitah. [Mechanisms of immune «escape» in viral hepatitis]. Russian journal of gastroenterology, Hepatology, Coloproctology, 5, 7–13.
11. Ivashkin, V., Mammaev, S., Lukina, A. (2001). Osobennosti immunnogo otveta u bolnih hronicheskimi virusnim hepatitom C. [Features of immune response in patients with chronic viral hepatitis C]. Russian journal of gastroenterology, Hepatology, Coloproctology, 3, 24–29.
12. Wedemeyer, H., Cornberg, M., Manns, M. (2003). [Immunopathogenesis and treatment of hepatitis C]. Liver Immunology, by Hanley & Belfus, Inc., 223–248.
13. Krasavcev, E., Micura, V., Gavoronok, S. (2005). Uroven nekotorykh citokinov I antitel k virusu hepatita C u bolnih hronicheskimi hepatitom C. [The level of some cytokines and antibodies to hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis C]. Journal of Microbiology, 5, 103–105.
14. Semenenko, T. (2005). Immunologicheskie pokazateli effektivnosti lecheniya hronicheskogo hepatita C [Immunological indicators for the effectiveness of treatment of chronic hepatitis C]. Viral hepatitis: advances and prospects, 1, 3–9.
15. Sobchak, D., Korochkina, O., Monakova, E. (2005). Ocenka pokazateley citokinovogo spektra bolnih hepatitom C pri lechenii preparatami interferona –  $\alpha$ . [Assessment of indicators of cytokine spectrum in patients With hepatitis C when treated with interferon – alpha]. Therapeutic Archive, 2, 70–72.
16. Sklyar, L. F. (2005). Ronkoleikin v lechenii hronicheskikh virusnih hepatitov. [Roncoleukin in the treatment of chronic viral hepatitis]. Epidemiology and infectious diseases, 2, 28–32.

*Рекомендовано до публікації д-р мед. наук, професор Нартов П. В.  
Дата надходження рукопису 17.06.2015*

**Гололобова Олесья Василівна**, кандидат медичних наук, доцент, кафедра загальної та клінічної імунології та алергології, Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна, пл. Свободи, 4, м. Харків, Україна, 61022

E-mail: Gololobova\_O@mail.ru