

ЕФЕКТИВНІСТЬ ЕТІОТРОПНОЇ ТЕРАПІЇ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С У ХВОРИХ З СУПРОВІДНОЮ КРІОГЛОБУЛІНЕМІЄЮ

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського

ЕФЕКТИВНІСТЬ ЕТІОТРОПНОЇ ТЕРАПІЇ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ С У ХВОРИХ З СУПРОВІДНОЮ КРІОГЛОБУЛІНЕМІЄЮ – На підставі аналізу результатів терапії інтерфероном у 29 пацієнтів з хронічним гепатитом С виявлено особливості впливу етіотропного лікування у хворих з різними типами супровідної кріоглобулінемії та без неї. Виявлений виражений терапевтичний вплив рекомбінантного інтерферону на перебіг хронічного гепатиту С на тлі кріоглобулінемії 2-го типу і слабку лікувальну ефективність – при 3-му типі.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭТИОТРОПНОЙ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С У БОЛЬНЫХ С СОПУТСТВУЮЩЕЙ КРИОГЛОБУЛИНЕМИЕЙ – На основании результатов терапии интерфероном у 29 пациентов с хроническим гепатитом С выявлены особенности влияния этиотропного лечения у больных с различными типами сопутствующей кримоглобулинемии и без неё. Выявлено выраженное терапевтическое влияние рекомбинантного интерферона на течение хронического гепатита С на фоне кримоглобулинемии 2-го типа и слабую лечебную эффективность – при 3-м типе.

EFFECTIVENESS OF ETIOTROPIC TREATMENT OF CHRONIC HEPATITIS C IN PATIENTS WITH CONCOMITANT CRYOGLOBULINAEMIA – Basing on the analysis of the results of therapy with interferon of 29 patients with chronic hepatitis C, the peculiarities of etiotropic treatment influence on autoimmune complications induction have been determined. A marked therapeutic influence of recombinant interferon on the chronic hepatitis C course has been determined in the patients with the 2nd type cryoglobulinaemia and pure therapeutic effectiveness in case of the 3rd type.

Ключові слова: хронічний гепатит С, інтерферон, терапія, кріоглобулінемія.

Ключевые слова: хронический гепатит С, интерферон, терапия, кримоглобулинемия.

Key words: chronic hepatitis C, interferon, therapy, cryoglobulinaemia.

ВСТУП Проблема лікування хворих на хронічні вірусні гепатити з парентеральним механізмом передачі залишається вельми актуальною і повністю не розв'язаною. На сьогодні єдиною схемою лікування хворих на хронічний гепатит С (ХГС) з доведеною у багатоцентрових дослідженнях ефективністю вважається поєднання препаратів рекомбінантного інтерферону і рибавіріну [1]. Але при цьому виявлено декілька передумов (резистентні генотипи вірусу, наявність цирозу печінки, перебіг гепатиту з низькими трансаміназами тощо), які різко знижують ефективність противірусної терапії.

Разом з тим, залишається чимало інших факторів, які можуть суттєво впливати на дієвість етіотропного лікування, проте залишаються недостатньо вивченими [2]. До таких чинників належать також позапечінкові прояви ХГС, у першу чергу – кріоглобулінемії. Останніми роками у світі та в Україні значно зросла зацікавленість до кріоглобулінів – термолабільних білків сироватки крові, які стають нерозчинними при зниженні температури нижче за 37 °С. На сьогодні переважна більшість випадків так званої змішаної кріоглобулінемії (2–3-го типів) асоціюється з реплікацією в організмі вірусу гепатиту С [3]. При цьому більшість дослідників вважає цю патологію основним імунопатогенетичним чинником розвитку позапечінкових проявів ХГС, на відміну від гепатиту В, коли такі синдроми формуються як результат патологічного впливу імунних комплексів [4].

Вважається також, що як самі віріони, так і специфічні антитіла до них можуть фіксуватися у складі кріопреципітатів. Це з одного боку погіршує можливості їх виявлення і зумовлює хибно-негативні результати діагностики ХГС, а з іншого – значно знижує ефективність етіотропної терапії, оскільки вірус у кріокомплексах практично невразливий до впливу препаратів інтерферону. Цей момент резистентності, хоч і був описаний в літературі [5], проте до цього часу не враховувався при лікуванні хворих ні при багатоцентрових, ні при пілотних дослідженнях.

З іншого боку, є дані літератури про виражений терапевтичний вплив терапії препаратами рекомбінантних інтерферонів на перебіг кріоглобулінемії у частини пацієнтів з хронічним гепатитом С [3]. Натомість інші дослідники свідчать про ефективність глюкокортикоїдів і недоцільність застосування інтерферонів у таких хворих [5].

Враховуючи суперечливі дані про нижчу ефективність інтерферонотерапії за умови супровідної кріопатії, а також високий ризик індукції аутоімунних розладів у таких пацієнтів [6], питання етіотропного лікування у них потребує подальших досліджень. Метою нашого дослідження було вивчення ефективності застосування інтерферонів у хворих на ХГС з супровідною кріоглобулінемією залежно від її типу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ Для виконання завдання дослідження нами було обстежено 32 хворих на ХГС. Тривалість гепатиту у них була від 1 до 8 років. В усіх хворих діагноз гепатиту С верифікували шляхом виявлення HCV-РНК у сироватці крові, а за умови супровідної кріоглобулінемії – ще у кріопреципітаті. У дослідження не включали пацієнтів з супровідною HBV-інфекцією, ураженням печінки алкогольної етіології, а також з симптомами цирозу печінки. Маркери HCV визначали імуноферментним методом, HCV-РНК – методом полімеразної ланцюгової реакції як у сироватці крові, так і у кріопреципітаті запропонованим нами методом [7]. Оскільки формування кріоглобулінів 1-го типу загалом характерне для деяких типів пухлин і лімфопроліферативних захворювань, але цілком не властиве для HCV-інфекції, то в дослідження включили 12 пацієнтів без супровідної кріопатії (1-ша група), у 9 були кріоглобуліни 2-го типу (2-га група), ще в 11 – 3-го (3-я група). Для встановлення вмісту кріоглобулінів використовувалась методика [8], принцип якої полягає у вираховуванні різниці оптичних щільностей розчину сироватки крові у веронал-мединаловому буфері (рН=8,6) при 4 та 37 °С. Типи кріоглобулінів визначали за методикою гістерезисних кривих оптичної щільності. Популяції і субпопуляції лімфоцитів визначали за експресією рецепторів за допомогою моноклонових антитіл. Концентрацію інтерлейкіну-2 (ІЛ-2) встановлювали імуноферментним методом за допомогою тест-систем "Протеиновый контур" (Росія). Усі дослідження проводили перед дослідженням і протягом усього часу проходження терапії з інтервалом у 2 місяці.

Усі пацієнти отримували препарат рекомбінантного інтерферону (лаферон) по 3 млн МО і рибавірін у розрахунку на масу тіла протягом 6 місяців і довше. У дослідження включали лише хворих без проявів цитопенії, наявності аутоантитіл до тиреоглобуліну і ДНК. У 2 пацієнтів з кріоглобулінемією 3-го типу етіотропне лікування було перерване через 2 місяці після початку противірусної терапії через різке наростання рівня аутоантитіл до тиреоглобуліну (у 8 і 10 разів відповідно).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ При порівнянні лабораторних показників функції печінки у хворих до лікування (табл. 1) можна відзначити суттєво гірші результати у пацієнтів з 2-м типом кріоглобулінемії, порівняно з представниками 1-ї групи. При цьому концентрація білірубину у хворих з 2-ї групи була достовірно вищою (P < 0,05).

У пацієнтів зі супровідною кріоглобулінемією 3-го типу, навпаки, концентрація білірубину, а також активність АлАТ

Таблиця 1. Динаміка лабораторних показників функції печінки при різних типах КГЕ протягом 6 місяців етіотропного лікування

Група	Білірубін, x 10 ⁻³ моль x л ⁻¹		АлАТ, x 10 ⁻⁶ моль x год ⁻¹ x л ⁻¹		АсАТ, x 10 ⁻⁶ моль x год ⁻¹ x л ⁻¹	
	до лікування	через 6 міс.	до лікування	через 6 міс.	до лікування	через 6 міс.
1-а, n=12	23,6±1,1	15,9±0,8 ⁺	1,91±0,07	0,48±0,04 ⁺	1,21±0,06	0,48±0,03 ⁺
2-а, n=9	29,5±1,6*	14,1±0,7 ⁺	1,93±0,09	0,37±0,05 ⁺	1,43±0,10	0,33±0,05 ⁺ *
3-я, n=9	20,4±1,6	21,2±0,7*	0,75±0,06*	0,98±0,05 ⁺ *	0,71±0,05*	0,81±0,06*

Примітки: ⁺ – достовірність різниці з показником до лікування (P < 0,05); * – достовірність різниці з показником у 1-й групі (P < 0,05).

і АсАТ були суттєво нижчими до лікування порівняно з хворими на кріопатію 2-го типу і без неї. Активність лужної фосфатази до лікування була найвищою у представників 3-ї групи.

Вже протягом перших двох місяців інтерферонотерапії спостерігалось значне покращення лабораторних показників функції печінки у пацієнтів з 1-ї і 2-ї груп. Згадані зміни були максимально вираженими у хворих з кріоглобулінемією 2-го типу (P < 0,05). Але при цьому практично не виявлено покращання показників у пацієнтів 3-ї групи, навпаки, виявлена тенденція до наростання активності трансаміназ. Охарактеризовані вище зміни зберігалися після 4 і після 6 місяців лікування. Активність лужної фос-

фатази протягом лікування достовірно не змінювалася протягом усього часу лікування інтерфероном (P > 0,05).

Таким чином, стандартна схема етіотропної терапії „інтерферон-альфа + рибавірин” мала максимальний і найбільш швидкий терапевтичний ефект у хворих на ХГС з супровідною кріоглобулінемією 2-го типу, більш повільний – у пацієнтів без кріопатії. У випадку кріоглобулінемії 3-го типу не виявлено позитивного впливу препаратів інтерферону на динаміку біохімічних показників. Більше того, після 6 місяців лікування у таких пацієнтів помірно підвищилася активність АлАТ і АсАТ.

Паралельно з дослідженням біохімічної функції печінки проводили визначення показників імунної відповіді (табл. 2).

Таблиця 2. Динаміка показників клітинної ланки імунітету і рівня ІЛ-2 при різних типах КГЕ протягом 6 місяців етіотропного лікування

Група	CD3, %		CD4, %		CD8, %		ІЛ-2, пг/мл	
	до лікування	через 6 міс.	до лікування	через 6 міс.	до лікування	через 6 міс.	до лікування	через 6 міс.
1-а, n=12	59,2±2,2	58,2±1,4	33,3±2,7	34,2±2,1	26,1±2,7	23,5±1,2	72,2±2,3	139,1±5,2 ⁺
2-а, n=9	60,2±3,6	62,6±2,0	32,3±1,9	37,9±1,7	28,3±1,6	24,2±2,2	60,1±3,8*	148,2±7,1 ⁺
3-я, n=9	65,2±2,3	66,7±1,7*	39,7±1,5	45,4±1,3 ⁺ *	25,7±2,2	21,5±1,7	112,2±9,8*	124,5±6,7*

Примітки: ⁺ – достовірність різниці з показником до лікування (P < 0,05); * – достовірність різниці з показником у 1-й групі (P < 0,05).

При аналізі показників клітинної ланки до лікування можна відмітити відсутність достовірної різниці у концентрації CD3-лімфоцитів в усіх трьох групах пацієнтів (P > 0,05). Але при цьому відсоток CD4-клітин був найвищим у хворих з 3-м типом кріоглобулінемії, за рахунок чого у них зберігалось нормальне співвідношення CD4/CD8. Натомість у пацієнтів 2-ї групи імунорегуляторний індекс до лікування був достовірно зниженим (P < 0,05) за рахунок високого рівня CD8-лімфоцитів. Вміст ІЛ-2 до лікування був найнижчим у хворих з кріоглобулінемією 2-го типу, найвищим – в осіб з кріопатією 3-го типу.

Після проведеної етіотропної терапії показники клітинної ланки імунної відповіді у пацієнтів без супровідної кріопатії суттєво не змінилися. У них спостерігали лише тенденцію до відновлення співвідношення CD4/CD8.

У хворих зі супровідною кріоглобулінемією 2-го типу за рахунок вираженої тенденції до наростання концентрації CD4-лімфоцитів і зниження – CD8-клітин повністю відновився імунорегуляторний індекс. Рівень ІЛ-2 протягом лікування зріс у 2,5 раза, хоч і не відновився до нормального показника. Тобто, у пацієнтів 2-ї групи інтерферон мав не лише протівірусний (етіотропний) вплив, але і позитивний імунорегулювальний і цитокінонорегулювальний (патогенетичний) ефект.

У хворих з 3-м типом кріоглобулінемії за рахунок достовірного наростання рівня CD4-лімфоцитів (P < 0,05) і чіткої тенденції до зниження з боку CD8-клітин спостерігали надмірне зростання співвідношення CD4/CD8 (P < 0,05). Інтерферонотерапія у таких пацієнтів за рахунок виражено-

го імуностимулювального впливу „розгальмувала” клітинну ланку і могла зумовити маніфестацію прихованих автоімунних реакцій. Рівень ІЛ-2 у цих хворих зростає досить незначно (P > 0,05), а після завершення лікування був достовірно нижчим, ніж у пацієнтів 1-ї і 2-ї груп (P < 0,05).

Привертає увагу різниця у частоті виявлення маркерів НС-вірусної інфекції у сироватці крові хворих з кріоглобулінемією та без неї. Так, специфічні антитіла класу М у хворих пацієнтів з кріоглобулінемією 2-го типу виявлялися удвічі, а 3-го типу – у 8 разів рідше, ніж в обстежуваних без супровідної кріоглобулінемії (P < 0,05). За умови аналізу кріопреципітату частота виявлення анти-НСV ІgM суттєво не відрізнялася в усіх групах (табл. 3).

Аналогічні зміни спостерігалися і при обстеженні на наявність НСV-РНК. Генетичний маркер вірусу гепатиту С не виявлявся в сироватці крові у третини пацієнтів з 2-м типом кріоглобулінемії та майже у двох третин – з 3-м (P < 0,05). Ймовірність виявлення НСV-РНК у сироватці крові у хворих з супровідною кріоглобулінемією була суттєво вищою, ніж ймовірність ідентифікації у них анти-НСV ІgM, особливо при кріоглобулінемії 3-го типу (P < 0,05). Проте навіть за умови застосування полімеразної ланцюгової реакції залишається значна ймовірність хибно-негативних результатів обстеження на віруси за умови супровідної кріопатії (див. табл. 3). Саме тому при виявленні у пацієнта феномену кріопреципітації або інших клініко-лабораторних проявів кріопатії, необхідно провести вірусологічне дослідження кріопреципітату, передусім – на наявність маркерів НС-вірусної інфекції.

Таблиця 3. Наявність серологічних та генетичних маркерів НС-вірусної інфекції, %

Група	анти-HCV IgM				HCV-RНК			
	Сироватка крові		Кріопреципітат		Сироватка крові		Кріопреципітат	
	до лікування	через 6 міс.	до лікування	через 6 міс.	до лікування	через 6 міс.	до лікування	через 6 міс.
1-а, n=12	83,3	8,3 ⁺	–	–	100,0	41,7 ⁺	–	–
2-а, n=9	44,4	0,0 ⁺ *	88,9	0,0 ⁺ x	77,8	33,3	100,0	25,5 ^x
3-я, n=9	11,1*	11,1	77,8	55,6	44,4*	33,3	100,0	88,9*

Примітки: ⁺ – достовірність різниці з показником до лікування (P < 0,05); * – достовірність різниці з показником у 1-й групі (P < 0,05).
^x – у 5 хворих після лікування феномен кріопреципітації перестав виявлятися.

Після проведеного етіотропного лікування у переважної більшості хворих на ХГС без супровідної кріоглобулінемії (1-а група) перестали виявлятися специфічні антитіла класу М, а у 60 % пролікованих – ще й НСВ-РНК (P < 0,05). Висока лікувальна ефективність рекомбінантного інтерферону і рибавіріну проявилася також у групі пацієнтів з кріоглобулінемією 2-го типу. Більше того, частота виявлення серологічних і ампліфікаційних маркерів НС-вірусної інфекції у сироватці крові та у кріопреципітаті була практично однаковою, а у 5 хворих (55,6 %) кріоглобуліні і кріопреципітація перестали виявлятися після піврічного курсу інтерферонотерапії.

Натомість у пацієнтів 3-ї групи ефективність етіотропного лікування була значно нижчою, а саме лікування практично не вплинуло на лабораторні прояви кріоглобулінемії.

Враховуючи низьку клініко-біохімічну ефективність препаратів рекомбінантного інтерферону у хворих із супровідною кріоглобулінемією 3-го типу, а також високу ймовірність індукції у них аутоімунних проявів [9], ці засоби не можуть бути медикаментами вибору у даного контингенту пацієнтів. Призначення їм інтерферонотерапії можливе, очевидно, лише після медикаментозної (антиагреганти) чи немедикаментозної (кріоплазмафільтрація) корекції кріоглобулінемії [10].

Характерно, що наявність в організмі хворих на ХГС кріоглобулінів 2-го типу не знижує ефективності противірусного лікування, більше того – етіотропна терапія має сприятливий лікувальний вплив на перебіг кріоглобулінемії.

ВИСНОВКИ 1. Наявність кріоглобулінемії 2-го типу не має суттєвого впливу на функцію печінки у пацієнтів з НСВ-інфекцією, проте суттєво поглиблює імунний дисбаланс.

2. Клінічний перебіг ХГС на тлі супровідної кріоглобулінемії 3-го типу характеризується меншими змінами біохімічних показників функції печінки, ніж у хворих з кріоглобулінемією 2-го типу чи без неї.

3. Призначення препаратів рекомбінантного інтерферону протягом 6 місяців зумовлює виражений клінічний, імунологічний і вірусологічний ефекти у хворих на ХГС зі супровідною кріопатією 2-го типу та без неї.

4. У пацієнтів з ХГС інтерферонотерапія має лікувальний вплив на перебіг супровідної кріоглобулінемії 2-го типу, зменшуючи удвічі відсоток хворих з феноменом кріопреципітації.

5. Застосування рекомбінантного інтерферону у хворих на ХГС зі супровідною кріоглобулінемією 2-го типу мало-ефективне.

ЛІТЕРАТУРА

1. Lasarte J.J., Garcia-Granero M., Lopez A. et al. Cellular immunity to hepatitis C virus core protein and the response to interferon in patients with chronic hepatitis C // *Hepatology*. – 1998. – V. 28. – P. 815-822.
2. Inchauspe G., Vitvitski L., Major M.E. et al. Plasmid DNA expressing a secreted or a nonsecreted form of hepatitis C virus nucleocapsid: comparative studies of antibody and T-helper responses following genetic immunization // *DNA Cell Biol.* – 1997. – V. 16. – P. 185-195.
3. Гайфуллина Э.Г., Субаева Г.М. Феномен смешанной кріоглобулінемии у больных хроническими вирусными гепатитами С // *Проблемы инфекции в клинической медицине: материалы научной конференции*. – СПб. – 2003. – С. 78-79.
4. Hadziyannis S.J. The spectrum of extrahepatic manifestations in hepatitis C virus infection // *J. Viral Hepat.* – 1997. – V. 4. – P. 9-28.
5. Pellicano R., Leone N., Maiocco I.A. Epatopatia cronica da HCV e crioglobulinemia. Lo spettro clinico associato // *Minerva Med.* – 1999. – V. 90, № 1-2. – P. 1-5.
6. McMurray R.W. Hepatitis C-associated autoimmune disorders // *Rheum. Dis. Clin. North. Am.* – 1998. – V. 24. – P. 353-374.
7. Андрейчин М.А., Господарський І.Я., Луцук О.С. Спосіб діагностики гепатитів В і С. Деклараційний патент на винахід // 2003. – Бюл. № 11.
8. Константинова Н.А., Кирсанов А.Ю. Оценка кріоглобулінов в сироватке крови с учетом циркулирующих иммунных комплексов // *Лаб. дело*. – 1989. – 11. – 62-65.
9. Ghinoi A., Mascia M.T., Puccini R. Manifestazioni autoimmuni e limfoproliferative HCV-correlate: l'esempio della crioglobulinemia mista // *G. Ital. Nefrol.* – 2004. – V. 21, № 3. – P. 225-237.
10. Kurushita N., Nhayashi N., Katayama K. High levels of serum interleukin-10 are associated with a poor response to interferon treatment in patients with chronic hepatitis C // *Scand. J. Gastroenterol.* – 1997. – V. 2. – P. 169-174.