

Кузнецов П.Л., Борзунов В.М., Веревищников В.К., Русяков Д.В.

Иммунологические показатели у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С при проведении комбинированной противовирусной терапии

ГБОУ ВПО "Уральская государственная медицинская академия" Минздравсоцразвития России, г. Екатеринбург

Kuznetsov P.L., Borzunov V.M., Verevshchikov V.K., Ruslyakov D.V.

Immunological parameters of patients with chronic hepatitis C during complex antiviral therapy

Резюме

Проведено исследование иммунологических показателей у 56 больных хронической HCV-инфекцией до и после проведения комбинированной противовирусной терапии (интерферона-альфа 2b + рибавирин). До начала лечения у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С выявлено достоверное снижение концентрации основных субпопуляций Т-лимфоцитов, гипериммуноглобулинемия (IgM, IgG) и повышение уровня ЦИК. Отмечено улучшение показателей Т-клеточного и гуморального звеньев иммунитета у лиц со стойким вирусологическим ответом на комбинированную противовирусную терапию.

Ключевые слова: HCV-инфекция, интерферон, рибавирин, иммунограмма

Summary

Immunological parameters of 56 patients with chronic hepatitis C were evaluated before and after complex antiviral treatment (interferon-alfa 2b + ribavirin). Significant decrease of T-lymphocyte subpopulations, hyperimmunoglobulinemia (IgM, IgG) and increased levels of circulating immune complexes were found in patients with chronic hepatitis C before treatment. Marked improvement of T-cell and humoral immunity in patients with stable virologic response to combined antiviral therapy was determined.

Keywords: HCV-infection, interferon, ribavirin, immunogram

Введение

Вирусный гепатит С (ВГС) является прогрессирующей хронической инфекцией с постоянным ростом заболеваемости как во всем мире, так и в Российской Федерации. В настоящее время хронический гепатит С (ХГС) представляет актуальную медико-социальную проблему ввиду его повсеместного распространения, возможности развития серьезных осложнений, значительного экономического ущерба, нерешенности многих вопросов противовирусной терапии, недостаточной ее эффективности и высокой стоимости. Частота носительства вируса гепатита С в 1999 г. в России составляла 93,5 на 100 тыс. населения, а в 2005 г. повысилась до 104,8 на 100 тыс. населения [1, 2, 3].

Высокая частота формирования хронических форм HCV-инфекции обусловлена «ускользанием» вируса от иммунологического надзора [4]. Известно, что при хроническом гепатите С (ХГС) происходит нарушение регуляции системы иммунитета, сопровождающееся повышением продукции провоспалительных цитокинов и формированием персистирующего воспаления в печеночной ткани [5].

Важнейшей особенностью HCV-инфекции является длительное течение, принимающее характер медленной инфекции, с высокой частотой развития цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы. Повреждение гепатоцитов происходит вследствие реализации как прямого цитопатического эффекта вируса, так и иммунологически опосредованного повреждения, которое реализуется при взаимодействии цитотоксических лимфоцитов с клетками печени, содержащими вирус. Прогрессирующее повреждение печени при ХГС обусловлено действием цитотоксических лимфоцитов (CTL), распознающих вирусные антигены, экспонированные на поверхности гепатоцитов. Таким образом, основную роль в патогенезе HCV-инфекции играет Т-клеточное звено иммунитета, и от его направленности зависит как исход заболевания, так и характер его течения в целом [6, 7, 8].

Эффективность противовирусного иммунитета связанная, в основном, с активностью клеточного звена, регулируется преимущественно Т-хелперами I типа (Th1) путём продукции соответствующих регуляторных цитокинов [8].

Хроническое течение HCV-инфекции само по себе является доказательством того, что противовирусный иммунитет при явном доминировании влияния Th1 всё же оказывается недостаточным для благоприятного исхода инфекционного процесса. Формирование иммунного ответа по гуморальному типу, с которым связывают определённые механизмы хронизации, происходит при доминирующем влиянии Т-хелперов 2 типа (Th2), чему также соответствует определённый спектр цитокинов [8, 9].

Стандартом лечения хронического гепатита С считают комбинированную терапию интерферонами (ИФН) и рибавирином, так как эти препараты обеспечивают как противовирусный, так и иммуномодулирующий эффект [10]. Критерием эффективной терапии ХГС принято считать отрицательный результат определения HCV-РНК в крови пациентов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) через 24 недели после завершения курса лечения. Такой результат РНК характеризуется как «стойкий вирусологический ответ».

Цель исследования: изучить показатели клеточно-го и гуморального звена иммунитета у больных хроническим вирусным гепатитом С при проведении комбинированной противовирусной терапии.

Материалы и методы

В исследование были включены 46 пациентов с подтверждённым диагнозом хронического вирусного гепатита С. Из них 30 мужчин (65,2%) и 16 женщин (34,8%). Возраст больных колебался от 18 до 46 лет и в среднем составил $31,5 \pm 4,2$ лет. Диагноз ХГС верифицирован определением содержания вирусной РНК в ПЦР с использованием тест-системы «АмплиСенс HCV-240/ВКО-440» (ФГУН ЦНИИ Эпидемиологии МЗ РФ, г. Москва), генотипирование ВГС проводилось с использованием тест-системы «АмплиСенс HCV-генотип» того же производителя. Антитела к структурным и неструктурным белкам в сыворотке крови определяли методом ИФА с помощью тест-систем ЗАО «Вектор Бест» III поколения (Новосибирск). Все больные получали комбинированную противовирусную терапию, которая включала сочетание интерферона-альфа 2b и рибавирина. Препарат ИФН- α 2b назначали в дозе 3 млн. МЕ через день внутримышечно в течение 24 недель. Рибавирин использовали в суточной дозе 13-15 мг/кг.

Мониторинг вирусологического ответа на проводимую терапию осуществляли четырёхкратно: через 4 недели терапии (быстрый вирусологический ответ - БВО), через 12 недель (ранний вирусологический ответ: полный (пРВО) – при отсутствии РНК HCV в крови и частичный (чРВО) – при снижении уровня вирусии ≥ 2 lg от исходного и с сохранением минимальной вирусии), через 24 недели (поздний вирусологический ответ - ПВО) и через 24 недели после завершения противовирусной терапии (стойкий вирусологический ответ - СВО).

По результатам вирусологического ответа пациенты были распределены на две группы. В первую группу вошли 34 пациента, у которых был зарегистрирован СВО. Вторую группу составили пациенты с отсутствием ответа на терапию (12 человек).

Для оценки иммунного статуса в пробах крови пациентов первой и второй групп определяли соотношения основных популяций и субпопуляций лимфоцитов с маркерами CD3 (Т-лимфоциты), CD4 (Т-хелперы), CD8 (цитотоксические Т-лимфоциты), CD20 (В-лимфоциты), CD56 (в основном, естественные киллеры). Параллельно определяли общее количество лейкоцитов и относительное количество лимфоцитов в периферической крови, а также показатель фагоцитарной активности. О состоянии гуморального иммунитета судили по концентрации сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G и уровню циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Иммунологический анализ проводился до назначения комбинированной противовирусной терапии (ПВТ) и по её окончании (через 24 недели).

Группу сравнения составили 30 добровольцев в возрасте от 21 до 37 лет ($28,3 \pm 4,3$), без хронических заболеваний, не имевших в анамнезе в течение года до проведения обследования острых заболеваний, травм и оперативных вмешательств.

Статистическую обработку данных проводили непараметрическими методами: для проверки гипотезы о достоверности различия независимых количественных показателей использовали U-критерий Манна — Уитни; для оценки значимости различия частот - критерий Хи-квадрат.

Результаты и обсуждение

По результатам генотипирования вируса гепатита С у 21 пациента (45,7%) обнаружен генотип 2, у 25 человек (54,3%) – генотип 3. Вирусная нагрузка составила в среднем $3,6 \times 10^6 \pm 1,9 \times 10^6$ копий/мл. Уровень АЛТ в крови в среднем составил $258,4 \pm 37,4$ ЕД (80- 584ЕД).

Полученные результаты исследования иммунологических показателей, приведённые в таблице 1, показали, что у больных ХГС до начала комбинированной противовирусной терапии отмечалось пониженное содержание в крови количества Т-лимфоцитов (CD3, CD4, CD8) и натуральных киллеров (CD56), несмотря на то, что различия показателей общего числа лейкоцитов и относительного содержания лимфоцитов в исследованной группе больных ХГС и группе сравнения были статистически недостоверными ($p > 0,05$).

При исследовании гуморального иммунитета у больных ХГС отмечено достоверное повышение концентрации иммуноглобулинов классов М и G по сравнению с группой практически здоровых лиц. Разница концентрации IgA и уровней высокомолекулярных ЦИК в двух исследованных группах была статистически недостоверна ($p > 0,05$), однако у больных ХГС отмечено двукратное повышение уровня среднемолекулярных и низкомолекулярных ЦИК ($p < 0,001$).

По окончании лечения наблюдались следующие итоговые показатели комбинированной терапии: БВО был достигнут у 21 человека (45,7%), пРВО – у 8 человек (17,4%), чРВО – у 3 человек (6,5%), ПВО – у 2 человек (4,3%). Стойкий вирусологический ответ отмечался у 32 человек (73,9%). Эти пациенты были объединены в груп-

Таблица 1. Иммунологические показатели больных хроническим вирусным гепатитом С до лечения и практически здоровых лиц группы сравнения

Показатель	ХГС (n=46)	Группа сравнения (n=30)	p
Лейкоциты	5,44±0,14	5,6±0,24	>0,05
Лимфоциты	34,7±0,93	34,2±1,23	>0,05
Т-лимфоциты (CD3+)	56,3±1,24	69,2±1,43	<0,05
Т-хелперы (CD4+)	36,7±1,00	44,9±2,33	<0,05
Т-супрессоры (CD8+)	15,1±0,84	27,1±1,2	<0,05
В-лимфоциты (CD20+)	9,1±0,45	10,6±0,44	>0,05
NK-клетки (CD56+)	7,53±0,36	13,5±0,72	<0,001
Фагоцитоз	62,1±1,36	69,4±1,6	>0,05
IgA	2,4±0,13	1,8±0,11	>0,05
IgM	2,5±0,12	1,7±0,16	<0,05
IgG	17,1±0,72	13,4±0,92	<0,05
Высокомолекулярные ЦИК	48,3±2,04	45,4±1,7	>0,05
Среднемолекулярные ЦИК	146±6,11	77,65±6,32	<0,001
Низкомолекулярные ЦИК	399±12,6	150,6±8,4	<0,001

Таблица 2. Иммунологические показатели больных хроническим вирусным гепатитом С по окончании комбинированной ПВТ в зависимости от её эффективности

Показатель	1 группа пациентов с СВО (n=34)	2 группа пациентов, не ответивших на терапию (n=12)	p
Лейкоциты	6,1±0,52	7,5±0,32	<0,05
Лимфоциты	36,62±0,74	38,2±0,34	>0,05
Т-лимфоциты (CD3+)	67,5±0,52	56,8±0,72	<0,001
Т-хелперы (CD4+)	42,4±1,08	38,6±1,27	<0,05
цитотоксические Т- лимфоциты (CD8+)	24,6±0,32	19,8±0,57	<0,05
В-лимфоциты (CD20+)	10,7±0,14	9,04±0,45	<0,05
NK-клетки (CD56+)	14,2±0,6	8,6±1,3	<0,05
Фагоцитоз	68,3±0,62	68,8±0,95	>0,05
IgA	1,83±0,28	2,6±0,38	<0,05
IgM	1,9±0,18	2,8±0,17	<0,05
IgG	14,1±0,4	17,9±1,2	<0,05
Высокомолекулярные ЦИК	51,4±1,43	77,64±1,24	<0,01
Среднемолекулярные ЦИК	99,8±10,41	208±8,45	<0,01
Низкомолекулярные ЦИК	178,7±12,32	352,4±9,76	<0,01

пу 1. Во вторую группу были включены 12 больных, у которых ответа на комбинированную ПВТ не наблюдалось.

Сравнительный анализ иммунограмм пациентов из указанных групп показал, что у больных первой группы отмечалось статистически достоверное изменение показателей иммунитета в сторону нормализации по всем исследуемым параметрам (табл. 2), тогда как у пациентов из второй группы существенных изменений иммунограммы не было выявлено.

Выводы

1. При хроническом гепатите С происходит нарушение регуляции как клеточного, так и гуморального звеньев иммунитета, сопровождающееся дефицитом зрелых Т- и В-лимфоцитов, гипериммуноглобулинемией (IgM, IgG) и высоким уровнем среднемолекулярных и низкомолекулярных ЦИК.

2. Комбинированная противовирусная терапия (сочетание интерферона-альфа 2b и рибавирина) более чем в 70% случаев приводит к формированию у пациен-

тов стойкого вирусологического ответа, сопровождаемого нормализацией показателей клеточного и гуморально-го звеньев иммунной системы. ■

Кузнецов П.Л., к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней ГБОУ ВПО УГМА Минздрава России, г. Екатеринбург; Борзунов В.М., д.м.н., профессор, главный внештатный инфекционист Министерства здравоохранения Правительства Свердловской области, заведующий кафедрой инфекционных болезней ГБОУ ВПО УГМА Минздрава России, г. Екатеринбург; Веревищikov В.К., к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней ГБОУ ВПО УГМА Минздрава России, г. Екатеринбург; Русяков Д.В., к.м.н., ассистент кафедры инфекционных болезней ГБОУ ВПО УГМА Минздрава России, г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку - Кузнецов Павел Леонидович, 620102, г. Екатеринбург, ул. Волгоградская, 189, e-mail: kupal@mail.ru

Литература:

1. Романцов М. «Тройная» терапия хронического вирусного гепатита С у пациентов с генотипом 1b // Т.Сологуб, А.Шульдяков, С.Комиссаров // ВРАЧ. - 2006. - №7. - С.1-4.
2. Сологуб Т.В. Оптимизация «золотого стандарта» в лечении больных хроническим вирусным гепатитом С // И.П. Баранова, С.Н. Коваленко, А.А. Шульдяков, М.Г. Романцов // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. - 2006. - №4. - С.124-130.
3. Wang T., Blatt, Seiwert S. Immunomodulatory activities of IFN-gamma in the treatment of chronic HCV infections. // J. Interferon Cytokine Res. 2006. v. 26. n.7. p. 473-483.
4. Маммаев С.Н., Лукина Е.А., Шульпекова Ю.О. и др. Механизм иммунного «ускользания» при хроническом гепатите С // Росс. ж. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. - 2002. - № 2. - С. 55-60.
5. Логинов А.С., Царегородцева Т.М. Интерлейкины при хроническом вирусном гепатите // Тер. арх. - 2001. - № 2. - С. 17-20.
6. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология. - Москва.-2003.- С.98-109.
7. Серебряная Н.Б. Семейство интерферонов 1 типа // Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. / Цитокины. - Санкт-Петербург. - 2008. - С.23-41.
8. He X.S. CD 8+ T-cell response against hepatitis C virus / X.S. He, H.B. Greenberg // J. Viral Immunology. 2002. - Vol. 15, N1. - P. 121-131.
9. Иммунорегуляторные Th1- и Th2-цитокины при хронических инфекциях, вызванных вирусами гепатитов В и С / Л.С. Приймаги, В.Т. Тефанова, Т.Г. Тало и др. // Вопросы вирусол. 2003. - № 4. - С. 37-40.
10. Zeuzem S. The American association For the Study of Liver Diseases: new perspectives in the treatment of hepatitis C // Antivir. Ther. 2006. v.11. n.2. p.267-271.