

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЦИТОКИНОВОЙ РЕГУЛЯЦИИ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ МИКСТ-ГЕПАТИТЕ В+С

УДК 616.36—002.2—07:615.281.8

Поступила 4.02.2011 г.



О.Л. Соболевская, к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней;

Е.А. Михайлова, к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней

Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород

Цель исследования — изучение содержания ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ФНО- α у больных хроническим микст-гепатитом В+С, а также их динамики в процессе противовирусной терапии (ПВТ) для выявления возможных предикторов устойчивого вирусологического ответа (ВО) в отношении хронического гепатита С и ВО — в отношении хронического гепатита В.

Материалы и методы. Изучен цитокиновый статус у 53 больных хроническим микст-гепатитом В+С и проанализирована динамика уровней интерлейкинов (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6), ФНО- α в процессе ПВТ.

Заключение. Изменение показателей цитокинового профиля у больных хроническим микст-гепатитом В+С подтвердило наличие Th2-типа иммунного ответа (независимо от репликативной активности HBV/HCV), что являлось основой хронического течения процесса. Применение ПВТ способствовало усилению продукции ИЛ-2, активно участвующего в формировании Th1-типа иммунного ответа. Достоверное повышение уровня ИЛ-2 к окончанию первого месяца противовирусного лечения может служить дополнительным критерием прогнозирования устойчивого ВО у HCV РНК-положительных больных и ВО у HBV ДНК-положительных больных. При проведении ПВТ в случае хронического гепатита В с высокой репликативной активностью дополнительным прогностическим критерием эффективности лечения следует считать повышение содержания ФНО- α в 1,5 раза и более на 4—6-й неделе с последующим снижением до исходного уровня или ниже к 8—10-й неделе лечения.

Ключевые слова: хронический микст-гепатит В+С, цитокины, противовирусная терапия.

English

Diagnostic significance of cytokine regulation indexes in prediction of antiviral therapy effectiveness in chronic mixed hepatitis B+C

O.L. Sobolevskaya, PhD, Associate Professor, the Department of Infectious Diseases;

E.A. Mikhailova, PhD, Associate Professor, the Department of Infectious Diseases

Nizhny Novgorod State Medical Academy, Nizhny Novgorod

The purpose of the work is to study the content of IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, TNF- α in patients with chronic mixed hepatitis B+C, as well as their dynamics in the process of antiviral therapy (AVT) to reveal possible predictors of stable virologic response concerning chronic hepatitis C and virologic response in regard to chronic hepatitis B.

Materials and methods. Cytokine status has been studied in 53 patients with chronic mixed hepatitis B+C, and there has been analyzed the dynamics of interleukin levels (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6), TNF- α в in AVT process.

Conclusion. The cytokine profile variation in patients with chronic mixed hepatitis B+C confirmed the presence of Th2 type immune response (regardless HBV/HCV replicative activity) that was the basis of chronic process. The use of AVT contributed to the IL-2 production increase taking an active part in Th1 type immune response. Significant increase of IL-2 level by the end of the first month of antiviral therapy can be an additional criterion of predicting a stable VR in HCV RNA-positive patients and virologic response in HBV DNA-positive patients. The increase of TNF- α content is half as much on the 4—6th week with further decrease up to initial level or lower by the 8—10th week of treatment is to be considered an additional prognostic criterion of therapy effectiveness when carrying out AVT in the case of chronic hepatitis B with high replicative activity.

Key words: chronic mixed hepatitis B+C, cytokines, antiviral therapy.

Для контактов: Соболевская Оксана Львовна, тел. раб. 8(831)433-44-46, тел. моб. +7 910-396-91-37; e-mail: vad5584@yandex.ru.

В последнее время продолжается рост числа серологических микст-гепатитов, в частности В+С [1, 2], отличающихся неблагоприятным течением, с более частым, по сравнению с моноинфекциями, формированием цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы [2, 3]. Иммунопатогенетические механизмы, лежащие в основе развития хронических форм вирусных гепатитов, в том числе и микст-гепатита В+С, остаются недостаточно изученными. Установлено, что характер иммунного ответа на внедрение вирусов зависит от доминирующего участия Т-лимфоцитов первого (Th1) или второго (Th2) типа, различающихся по продуцируемым ими цитокинам и, соответственно, их роли в стимуляции развития иммунного ответа по клеточному и гуморальному типам [4—6]. Клеточный тип иммунного ответа, играющий ведущую роль в противовирусной защите организма, формируется при активизации Th1-лимфоцитов, продуцирующих следующие провоспалительные цитокины: интерлейкины ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, фактор некроза опухоли α (ФНО- α), интерферон γ (ИНФ- γ). Преобладание гуморального звена иммунитета происходит под воздействием противовоспалительных цитокинов ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-13, которые секретируются Th2-лимфоцитами. Вместе с тем некоторые цитокины (ИЛ-6, ФНО- α) играют двойную роль в развитии ответной иммунной реакции. Так, ИЛ-6, с одной стороны, индуцирует синтез белков острой фазы, а с другой, при длительно протекающем инфекционном процессе включается в механизмы фиброобразования тканей, в частности стимуляции фиброза в печени, и остановки воспалительной реакции тканей [6, 7]. ФНО- α вовлечен как в эффекторное, так и в регуляторное звено иммунитета и обладает цитотоксическим действием на клетки, пораженные вирусами, но при длительно персистирующей инфекции может участвовать в ограничении воспалительного процесса [6, 8]. Таким образом, формирование адекватного иммунного ответа на внедрение вирусов базируется на балансе Th1- и Th2-лимфоцитов. В соответствии с этим мы сочли важным оценить некоторые характеристики цитокиновой реакции, характеризующей Th1- и Th2-типы иммунного ответа, у больных хроническим вирусным микст-гепатитом В+С.

Цель исследования — изучение содержания ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ФНО- α у больных хроническим микст-гепатитом В+С, а также их динамики в процессе противовирусной терапии для выявления возможных предикторов устойчивого вирусологического ответа в отношении хронического гепатита С и вирусологического ответа — в отношении хронического гепатита В.

Материалы и методы. Под наблюдением находилось 53 больных хроническим микст-гепатитом В+С с разной репликативной активностью вирусов хронического гепатита С (ХГС) и хронического гепатита В (ХГВ): ХГВ и ХГС с низкой репликативной активностью — 10 человек; ХГВ и ХГС с высокой репликативной активностью — 6; ХГВ с низкой + ХГС с высокой репликативной активностью — 28; ХГВ с высокой + ХГС с низкой репликативной активностью — 9.

Диагноз устанавливали с учетом результатов клинико-анамнестического, биохимического и морфологи-

ческого исследований и верифицировали обнаружением специфических серологических маркеров вирусов гепатитов В и С — HBV (HBsAg, HBeAg, анти-HB core IgM, анти-HB core IgG) и HCV (анти-HCV, анти-HCV core IgM, анти-HCV core IgG, анти-HCV NS3, NS4, NS5). У всех больных методом полимеразной цепной реакции определяли в крови РНК HCV и ДНК HBV. Больным с высокой репликативной активностью HBV и HCV (4 человека) назначалась комбинированная противовирусная терапия (ПВТ) пегилированным ИНФ- α 2 (ПЭГ ИНФ- α 2), рибавирином и аномальными нуклеозидами (ламивудин — 100 мг/сут); при высокой активности репликации HCV и низкой репликативной активности HBV (11 больных) — ПЭГ ИНФ- α 2 в комбинации с рибавирином; при низкой репликации HCV в сочетании с активной репликацией HBV (5 больных) — Альтевир (6 млн ед. через день подкожно) и телбивудин (600 мг 1 раз в сутки). Дозы и длительность лечения ПЭГ ИНФ- α 2 и рибавирином были общепринятыми, соответствовали генотипу и массе больного. Остальные 33 больных получали базисную терапию. Наблюдение продолжалось от 6 мес до 4 лет после окончания лечения. Контрольную группу составили 30 здоровых доноров (в возрасте от 20 до 50 лет). Они были обследованы с целью определения нормального уровня цитокинов. Содержание в периферической крови цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ФНО- α) определяли методом ИФА с использованием тест-систем («Протеиновый контур», Санкт-Петербург).

В соответствии с требованиями вариационной статистики вычисляли среднюю арифметическую (M), среднюю ошибку арифметической (m). С целью выяснения взаимосвязи изменений разных показателей использовали критерий Стьюдента. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Повышенный уровень провоспалительных и противовоспалительных цитокинов установлен у всех без исключения больных хроническим микст-гепатитом В+С по сравнению со здоровыми (табл. 1). Увеличение уровня провоспалительных цитокинов при хронической инфекции следует расценивать как результат длительного воздействия возбудителя на организм человека, приводящего к активации макрофагально-моноцитарных клеток и Т-лимфоцитов с последующей секрецией этой группы медиаторов. Так как альтернативными регулирующими медиаторами для макрофагов и Т-лимфоцитов являются противовоспалительные цитокины, их увеличение при хроническом вирусном гепатите легко объясняется способностью ингибировать продукцию многих провоспалительных цитокинов [6, 8, 9]. Таким образом, длительная персистенция HCV и/или HBV приводит к активации как Th2-лимфоцитов, так и Th1-эффекторного звена иммунитета, направленного на подавление репликации вирусов. С этих позиций естественно предположить, что уровень цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6 и ФНО- α в разные стадии инфекционного процесса при гепатитах В и С может меняться и оценка содержания именно этих медиаторов может представлять интерес (табл. 2).

Таблица 1

Цитокиновый профиль у больных хроническим микст-гепатитом В+С и у здоровых, пг/мл (M±m)

Исследуемые группы	ИЛ-1β	ИЛ-2	ИЛ-4	ИЛ-6	ФНО-α
Здоровые	103,4±8,1	46,1±4,7	47,8±5,4	48,1±3,9	39,1±4,1
ХГВ+ХГС	278,5±17,2 p=0,032	109,7±11,4 p=0,024	128,5±16,1 p=0,018	107,1±10,4 p=0,028	132,1±10,8 p=0,015

Таблица 2

Цитокиновый профиль у больных хроническим микст-гепатитом В+С с разной активностью репликации вирусов, пг/мл (M±m)

Исследуемые группы	ИЛ-1β	ИЛ-2	ИЛ-4	ИЛ-6	ФНО-α
ХГВ и ХГС с низкой репликативной активностью	503,7±25,3	149,2±16,5	71,8±3,4	122,5±23,7	168,1±19,2
ХГВ и ХГС с высокой репликативной активностью	201,3±18,7 p=0,008	92,5±12,8 p=0,034	146,3±20,1 p*=0,028	85,6±8,3 p=0,118	108,7±10,5 p=0,038
ХГВ с низкой + ХГС с высокой репликативной активностью	213,2±19,3 p=0,013	94,3±11,9 p=0,044	158,2±21,4 p*=0,022	93,4±9,8 p=0,126	112,5±10,6 p=0,045
ХГВ с высокой + ХГС с низкой репликативной активностью	195,4±17,4 p=0,005	102,6±13,7 p=0,048	139,4±19,1 p*=0,034	89,4±9,1 p=0,121	109,4±11,7 p=0,042

Примечание: p — статистическая значимость различий с максимальными значениями; p* — с минимальными значениями.

Как видно из таблицы, содержание провоспалительных цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-2 и ФНО-α значительно ниже при активной репликации обоих вирусов, чем у больных с их низкой репликативной активностью (p=0,008; p=0,042; p=0,046 соответственно). Закономерность этих данных подтверждалась близкими результатами, которые наблюдались при наличии репликативной активности даже одного из вирусов. С другой стороны, у больных с низкой репликативной активностью обоих вирусов выявлены статистически значимо более высокие абсолютные значения этих медиаторов.

Иные закономерности были обнаружены при оценке содержания противовоспалительного цитокина ИЛ-4. При микст-гепатитах с высокой активностью репликации обоих или даже одного из вирусов определяли достоверно более высокие его показатели, чем у больных с низкой репликативной активностью (p<0,05). Полученные результаты согласуются с данными многочисленных исследований, которые показали, что доминирование провоспалительных цитокинов, особенно ИЛ-2, как правило, приводит к выздоровлению человека и элиминации возбудителя при той или иной инфекционной патологии [4, 6, 8]. Соответственно, усиление выработки противовоспалительных цитокинов, преимущественно ИЛ-4, сигнализирует о высокой вероятности формирования Th2-типа иммунного ответа, который ассоциируется с хронизацией инфекционного процесса, в частности вирусных гепатитов.

С целью возможного прогнозирования эффективности ПВТ проведена оценка динамики медиаторов у больных с наличием и отсутствием устойчивого вирусологического ответа (ВО) — в отношении ХГС и ВО — в отношении ХГВ. В процессе наблюдения устойчивый ВО зарегистрирован у 11 из 15 РНК-позитивных больных. У 5 из 9 ДНК-позитивных больных наблюдался ВО.

Анализ цитокинового профиля показал, что к моменту окончания ПВТ произошло закономерное снижение содержания провоспалительных цитокинов, связанных с проявлениями некробиотических и мезенхимально-воспалительных процессов (ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО-α), сравнительно с соответствующими значениями до начала терапии. Это относилось как к частотным показателям (снижение ИЛ-1β — у 60 и 12,1%, ИЛ-6 — у 55 и 15,1%, ФНО-α — у 55 и 12,1% больных, получивших ПВТ и базисную терапию соответственно (p=0,002; p=0,003; p=0,002)), так и к средним значениям абсолютных показателей.

Иная тенденция наблюдалась при оценке уровня ИЛ-2. У больных микст-гепатитом, получавших ПВТ, отмечали повышение содержания данного цитокина (среднее значение до начала лечения — 98,6±7,9 пг/мл, после окончания — 192,8±15,3 пг/мл; p=0,009). Увеличение содержания ИЛ-2 по сравнению с исходными значениями в этой группе регистрировалось значительно чаще, чем среди больных, получавших только базисную терапию (85 и 15,1% соответственно, p=0,004). При назначении базисной терапии отмечалась лишь тенденция к увеличению содержания данного цитокина (87,5±5,9 и 98,2±6,7 пг/мл; p=0,1).

Изменения содержания ИЛ-4 в группе больных, получавших ПВТ, были менее значительными (до лечения — 137,3±12,2, после лечения — 152,6±14,3 пг/мл; p=0,08). У больных, не получавших ПВТ, уровень ИЛ-4 также практически не менялся (до лечения — 156,6±13,7 и после лечения — 161,8±14,9 пг/мл; p=0,1).

Выявленные различия подтверждались результатами динамической оценки цитокинового статуса у больных с разным эффектом ПВТ. У всех больных с последующим устойчивым ВО уже через месяц от начала лечения отмечено значительное повышение ИЛ-2 (94,2±8,7 и 149,7±12,5 пг/мл; p=0,043) (рис. 1). В эти же

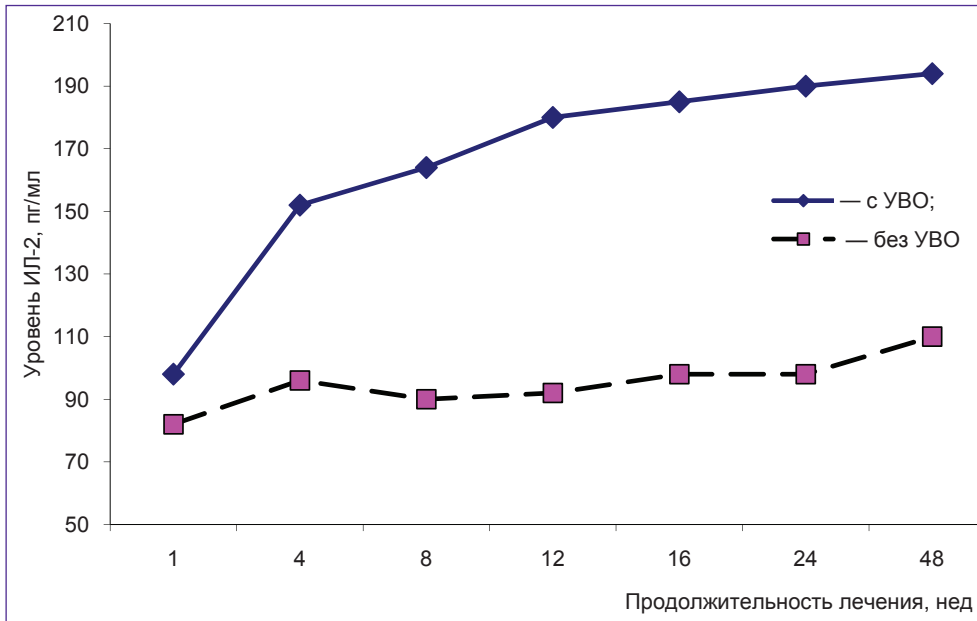


Рис. 1. Показатели интерлейкина ИЛ-2 у больных хроническим микст-гепатитом В+С с разным эффектом ПВТ

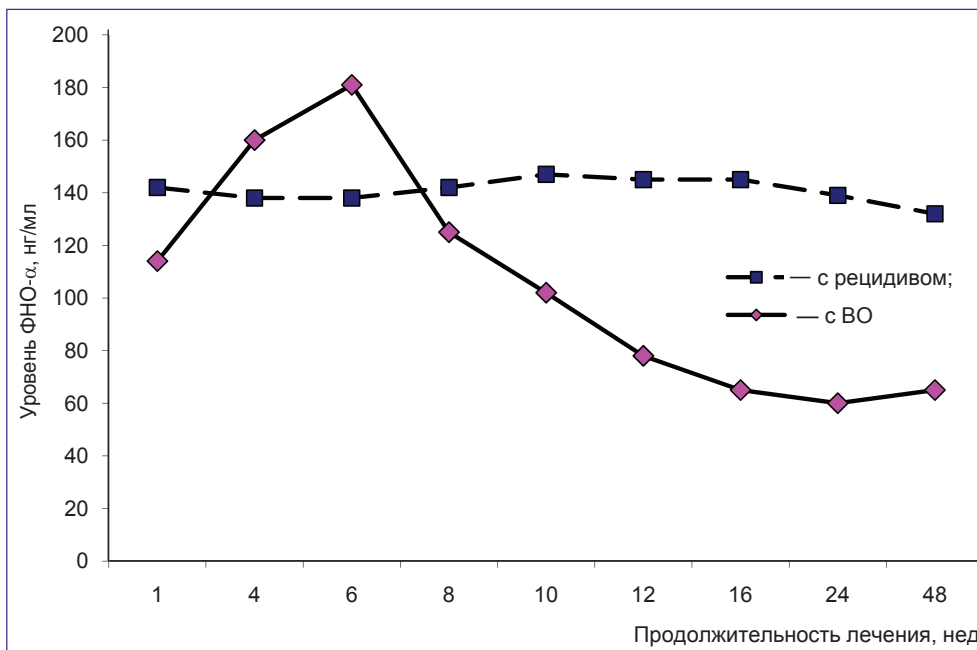


Рис. 2. Показатели ФНО-α у HBV ДНК-позитивных больных с разным эффектом ПВТ

сроки наблюдения у больных с рецидивом увеличение содержания данного цитокина было незначительным ($p=0,275$). Аналогичные результаты получены у больных с исчезновением HBV ДНК. Так, в эти же сроки терапии достоверное повышение уровня ИЛ-2 по сравнению с соответствующими значениями до начала ПВТ наблюдалось у 4 из 5 ДНК-позитивных больных с последующим ВО ($97,2 \pm 8,4$ и $159,6 \pm 13,8$ пг/мл; $p=0,041$). Интересно отметить, что к 4—6-й неделе ПВТ у всех ДНК-позитивных больных с последующим ВО зарегистрировано статистически значимое повышение уровня ФНО-α ($114,2 \pm 11,7$ и $182,6 \pm 17,5$ пг/мл; $p=0,036$) с доста-

точно быстрым снижением его содержания до исходного уровня или ниже ($108,2 \pm 9,7$ пг/мл; $p=0,032$) к 8—10-й неделе ПВТ (рис. 2).

Изменения уровней других цитокинов (ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-6) в процессе лечения у больных с разными результатами ПВТ имели статистически не значимые различия и были менее информативны ($p < 0,05$).

Заключение. Изменение показателей цитокинового профиля у больных хроническим микст-гепатитом В+С подтвердило наличие Th2-типа иммунного ответа (независимо от репликативной активности HBV/HCV), что являлось основой хронического течения процесса.

Применение противовирусной терапии способствовало усилению продукции ИЛ-2, активно участвующего в формировании Th1-типа иммунного ответа. Достоверное повышение уровня ИЛ-2 к окончанию первого месяца противовирусного лечения может служить дополнительным критерием прогнозирования устойчивого вирусологического ответа у HCV РНК-положительных больных и вирусологического ответа у HBV ДНК-положительных больных. При проведении противовирусной терапии ХГВ с высокой репликативной активностью дополнительным прогностическим критерием эффективности лечения следует считать повышение содержания ФНО- α в 1,5 раза и более на 4—6-й неделе с последующим снижением до исходного уровня или ниже к 8—10-й неделе лечения.

Литература

1. Иванова М.Р., Чуланов В.П., Жемухова Р.Х. Клинико-эпидемиологическая характеристика и показатели апоптоза у больных хроническими вирусными гепатитами. *Инфекционные болезни* 2009; 7(3): 5—7.
2. Матрос О.И. Клинико-эпидемиологическая характеристика микст-гепатитов в сравнении с моно-гепатитами А, В и С в Алтайском крае. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск; 2006.
3. Горбаков В.В., Хазанов А.И., Блохина Н.П. и др. Естественное течение сочетанных вирусных гепатитов В и С. *Болезни и возбудители* 2007; 3: 237—246.
4. Наследникова И.О., Рязанцева Н.В., Белобородова Е.В. и др. Дизрегуляция клеточного звена иммунитета при хроническом вирусном гепатите. *Бюллетень СО РАМН* 2005; 4(118): 59—63.
5. Ganem D., Prince A.M. Hepatitis B virus infection — natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 2004; 350: 1118—1129.
6. Робсон А., Ройт А., Делвз П. Основы медицинской иммунологии. М: Изд-во «Мир»; 2006; 920 с.
7. Собчак Д.М., Корочкина О.В. Оценка показателей Т-клеточного иммунитета и медиаторов иммунного ответа у больных хроническим гепатитом С. *Эпидемиология и инфекционные болезни* 2007; 2: 37—42.
8. Нагоев Б.С., Абидов М.Т., Понежева Ж.Б. Хронические вирусные гепатиты: иммуно-патогенетические, клинико-диагностические и терапевтические аспекты. Майкоп: ГУРИПП «Адыгея»; 2005; 300 с.
9. Конусова В.Г., Романова Е.С., Чурилова И.В. и др. Изменение показателей оксидантного и цитокинового статуса больных хроническим гепатитом С и В при лечении препаратом рекомбинантного интерлейкина 1 β человека. *Цитокины и воспаление* 2003; 2(1): 20—28.