

УДК 616.36-002.2-053.2:612.017.1

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА В У ДЕТЕЙ ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ

Чурбакова О.В.

*ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет»,
Самара, e-mail: o_churbakova@mail.ru*

В статье рассматриваются иммунные факторы, влияющие на патогенез хронического вирусного гепатита В (ХВГВ) у детей. Проанализирован цитокиновый профиль и корреляционные связи у детей с хроническим вирусным гепатитом В в репликативную фазу до лечения, ответивших и не ответивших на противовирусную терапию. Были проведены клинические наблюдения и исследования с применением общеклинических, биохимических, инструментальных, иммунологических методов, позволяющие получить наиболее полную и объективную информацию о наблюдаемых детях, больных ХВГВ. Обследованы 3 группы пациентов: до проведения лечения, ответившие и не ответившие на проведение терапии. Отмечалась взаимосвязь цитолиза и цитокинового профиля. Среди обследованных больных наибольшее изменение показателей цитокинового статуса отмечалось у детей до проведения терапии. Отклонение уровня цитокинов в сыворотке крови пациентов с ХВГВ от нормальных показателей является индикатором серьезности воспалительного процесса.

Ключевые слова: хронические вирусные гепатиты, репликативная фаза, цитокины, цитолиз

ESTIMATION OF EFFICIENCY OF ANTIVIRAL THERAPY OF THE CHRONIC VIRUS HEPATITES B AT CHILDREN ON PARAMETERS THE CYTOKINES STRUCTURE

Churbakova O.V.

Samara state medical university, Samar, e-mail: o_churbakova@mail.ru

In clause the immune factors influencing on patogenesis of a Chronic Virus Hepatites B (CVHB) at children are considered. It is analysed a cytokines structure and correlation communications at children with Chronic Virus Hepatites B in replicative phase before the treatment, answered and not answered on antiviral therapy. Clinical supervision and researches with application general-clinical, biochemical, tool, immunological the methods have been spent, allowing to receive the fullest and objective information on the observable children sick CVHB. Three groups of patients are surveyed: before carrying out the treatments, which answered and have not answered carrying out of therapy. The interrelation cytolysis and cytokines structure was marked. Among the surveyed patients the greatest change of parameters a cytokines status structure was marked at children before carrying out of therapy. The deviation of level cytokines in whey of blood of patients with CVHB from normal parameters is the indicator of gravity of inflammatory process.

Keywords: chronic virus hepatites, replicative phase, cytokines, cytolysis

Эпидемиологическая ситуация заболеваемости ХВГ (хроническими вирусными гепатитами) у детей остается важной и пока нерешенной проблемой общества.

Ведущая роль в течении ХВГ принадлежит состоянию иммунной системы больного, резервных возможностей организмов [7]. В основе патогенеза ХВГ лежат глубокие нарушения иммунного ответа с дисбалансом качественного состава иммунокомпетентных клеток, с нарушением их функциональной активности и клеточной кооперации.

По литературным данным, в развитии и течении вирусных поражений печени важная роль принадлежит цитокинам. Нарушение баланса между про- и противовоспалительными цитокинами играет важное значение в иммунных механизмах поражения печени.

Выявленный дисбаланс в цитокиновой системе с преобладанием провоспалительных ее элементов способствовал поддержанию каскада иммунопатологических

реакций с развитием стойких воспалительных изменений в печени [3]. Дисбаланс в цитокиновом спектре при вирусных гепатитах приводит к хронизации.

Цель исследования – изучить возможность определения цитокинового профиля и корреляционных связей у детей с хроническим вирусным гепатитом В для оценки эффективности проведенной терапии.

Материал и методы исследования

Под нашим наблюдением находились дети с хроническим вирусным гепатитом В (ХВГВ) в репликативную фазу в возрасте от 7 месяцев до 18 лет, которые были разделены на 3 группы: I группа – до проведения терапии – 100 больных; II группа – не ответившие на противовирусную терапию – 42, III группа – ответившие на противовирусную терапию – 58.

Дети находились на лечении в детском инфекционном отделении в городской клинической больнице № 2 им. Н.А. Семашко, большинство из них в последующем – в кабинете диспансерного наблюдения реконвалесцентов, выполняющего функцию гепатологического центра.

Исследование проводилось в соответствии с Конституцией РФ, глава 2, ст. 21, Этическим кодексом Российского врача, Хельсинской декларацией, Конвенцией Совета Европы «О правах человека и биомедицине». Все дети и их родители были информированы о целях и задачах работы, получены их согласие на проведение необходимых диагностических мероприятий и методов лечения (протокол № 102 от 16.02.2010 г. Комитета по биоэтике при ГОУ ВПО СамГМУ Росздрава).

В соответствии с поставленными задачами были проведены клинические наблюдения и исследования с применением общеклинических, биохимических, инструментальных, иммунологических методов, позволяющие получить наиболее полную и объективную информацию о наблюдаемых детях, больных ХВГ. Верификация диагноза проводилась методом ПЦР и ИФА. Диагноз ставился в соответствии с современными требованиями, с учетом классификации хронических гепатитов (Лос-Анджелес, 1994 г.) и МКБ 10 пересмотр (1995 г.) (Международная статистическая классификация, 1995 г.) [9].

Для характеристики иммунного ответа у больных с ХВГ в репликативную фазу был изучен спектр цитокинов, который включал группу провоспалительных цитокинов, продуцируемых в ответ на прямое действие вируса – ФНО- α , ИЛ-1, ИЛ-6, противовоспалительных цитокинов – ИЛ-4 и группу цитокинов – активаторов Т-лимфоцитов и регуляторов иммунного воспаления – γ -Интерферон, ИЛ-4, ИЛ-10.

Для определения циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови использовался метод преципитации с раствором полиэтиленгликоля (ПЭГ 6000) [2].

Для оценки связей признаков применялся корреляционный метод с расчетом ранговой корреляции Спирмена.

Для оформления результатов исследований применялись пакеты из системы Microsoft Office-2010 и CorelDraw-13.

Результаты исследования и их обсуждение

В настоящее время ведется активное изучение патологии хронических вирусных гепатитов с клинико-иммунологических позиций. Результаты многочисленных исследований свидетельствуют о том, что цитокинам принадлежит важная роль в контроле вирусной репликации, процессов повреждения, воспалительной инфильтрации, регенерации и фиброза печени.

При ХВГ в репликативную фазу тяжесть состояния больных варьировалась от удовлетворительного до тяжелого. В 83,1% детей констатировали состояние средней тяжести. При лечении пациенты получали противовирусную терапию препаратом интерферон альфа2b, который был назначен в соответствии с рекомендациями Европейской ассоциации по изучению печени 2009 г. (EASL Clinical Practice Guidelines 2009) [14]. Кроме того, дети получали базисную терапию, включающую желчегонные, витаминные препараты и гепатопротекторы (эссенциале, карсил, урсосан). Через 6 месяцев после проведенного лечения больные были разделены на ответивших и не ответивших на противовирусную терапию.

Так как интенсивность вирусной репликации вирусных гепатитов не всегда ассоциируется с выраженностью воспалительной реакции по показателям АлАТ, то актуально проведение исследования цитокинового профиля больных детей с ХВГ в репликативную фазу (таблица).

Соотношение уровня цитокинов при хроническом вирусном гепатите В у детей в репликативную фазу

Цитокины	ХВГ репликативная фаза			Контрольная группа пг/мл
	I группа <i>n</i> = 100	II группа <i>n</i> = 42	III группа <i>n</i> = 58	
ИЛ-1	32,75 ± 1,47***	28,9 ± 1,14***	14,75 ± 2,1***	6,26 ± 0,27
ИЛ-4	22,8 ± 1,23***	20,31 ± 1,48***	16,19 ± 1,1***	7,18 ± 0,56
ИЛ-6	32,15 ± 3,14***	31,85 ± 2,17***	22,89 ± 1,89***	5,82 ± 0,49
ИЛ-10	75,47 ± 1,83**	71,6 ± 1,57*	45,53 ± 2,16***	16,37 ± 0,32
ИФН- γ	2,32 ± 0,12	2,45 ± 0,3	2,67 ± 0,5	3,19 ± 0,84
ФНО- α	17,4 ± 2,7***	15,93 ± 2,58***	13,89 ± 3,7**	3,71 ± 1,02

Примечание. Уровни достоверности различия с контролем: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

Как видно из таблицы, уровень ФНО- α в сыворотке крови у обследуемых детей был повышен. Более выраженное повышение этого показателя наблюдалось у I группы больных – 17,4 ± 2,7 пг/мл, у II группы пациентов – 15,93 ± 2,58 пг/мл и III группы – 13,89 ± 3,7 пг/мл. Полученные результаты подтверждают данные литературы о повышении этого цитокина у больных

ХВГ, как медиатора, отражающего интенсивность воспаления [5, 11]. ФНО- α , как ИЛ-1 и ИЛ-6, участвует в реализации многих местных и системных проявлений воспалительной реакции. Во всех группах в репликативную фазу наблюдалось значительное повышение данного показателя. По литературным данным, ФНО- α является повышенным, так как он синтезируется

активированными макрофагами на ранних стадиях воспаления и некроза тканей. С высоким уровнем ФНО- α связывают появление основных клинических синдромов при вирусных гепатитах, таких, как гепатомегалия, цитолиз и развитие холестаза [15].

ИЛ-1 β является цитокином, который играет ключевую роль в развитии и регуляции неспецифической защиты, одним из первых включается в ответную защитную реакцию организма при воздействии патогенных факторов. Он стимулирует продукцию противовоспалительных цитокинов – ИЛ-6, ФНО- α , ИФН- γ . Наибольшая продукция ИЛ-1 β связана с активацией макрофагов, что происходит на ранних этапах заболевания. В наших наблюдениях отмечались у больных повышенные показатели ИЛ-1 β : I группы – $32,75 \pm 1,47$ пг/мл, у II группы – $28,9 \pm 1,14$ пг/мл и III группы – $14,75 \pm 2,1$ пг/мл. Столь же выражено различие уровней α -ФНО и ИЛ-1 β у больных, закончивших курс интерферонотерапии, и у больных хроническими гепатитами, не получавшими противовирусной терапии [4], что подтверждают и наши исследования.

Исследование про- и противовоспалительных цитокинов у детей с ХВГВ выявило повышенное содержание в сыворотке крови ФНО- α и ИЛ-1 во всех исследуемых группах.

ИФН- γ – эндогенный модулятор, индуктор II типа. По литературным данным, ИФН- γ играет центральную роль в развитии хронического воспаления. Он усиливает действие ФНО- α рядом клеток. ИФН- γ активирует синтез белков острой фазы клетками печени. В репликативную фазу при ХВГВ у детей отмечается его снижение, особенно у детей I группы ($2,32 \pm 0,12$ пг/мл).

При определении концентрации противовоспалительных цитокинов ИЛ-6 у детей с ХВГВ отмечалось достоверное увеличение их уровня: I группы – $32,15 \pm 3,14$ пг/мл, II группы – $31,85 \pm 2,17$ пг/мл и III группы – $22,89 \pm 1,89$ пг/мл. ИЛ-6 способствует как обострению хронических, так и хронизации острых воспалительных процессов. ИЛ-6 – белок острой фазы и в то же время сам вызывает синтез белков острой фазы в печени.

По литературным данным, ИЛ-10 является мощным противовоспалительным цитокином. Он ингибирует продукцию ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α . В зависимости от выраженности изменений АлАТ содержание ИЛ-10 находилось в исследуемых группах значительно выше нормы: I группы – $75,47 \pm 1,83$ пг/мл, II группы – $71,6 \pm 1,57$ пг/мл и III группы – $45,53 \pm 2,16$ пг/мл. Таким образом, продукция ИЛ-10 является маркером, в опреде-

ленной степени отражающим негативную регуляцию воспалительного процесса в печени [13].

Учитывая многочисленные свойства ФНО- α , ИЛ-1, ИЛ-10, отклонение уровня данных цитокинов в сыворотке крови от нормальных показателей является показателем серьезности воспалительного процесса, а изучение динамики их выработки является важным значением к пониманию механизмов поражения печеночной ткани при ХВГ.

ИЛ-4 – противовоспалительный цитокин, который ограничивает распространенность и интенсивность воспаления, ингибирует синтез макрофагами провоспалительных ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α , образование высокоактивных метаболитов кислорода, азота [12]. У детей с ХВГВ отмечалось достоверное повышение их уровня: I группы – $22,8 \pm 1,23$ пг/мл, II группы – $20,31 \pm 1,48$ пг/мл и III группы – $16,19 \pm 1,1$ пг/мл.

Показатели уровня цитокинов в репликативную фазу при хроническом вирусном гепатите В у детей представлены на рисунке.

Если сравнить уровень цитокинов в репликативную фазу при хроническом вирусном гепатите В, то следует отметить, что показатели I группы пациентов более усугублены.

Отклонение уровня ИЛ-1, ИЛ-10, ФНО- α цитокинов в сыворотке крови больных с ХВГ от нормальных показателей является индикатором серьезности протекания воспалительного процесса в печени.

По литературным данным, на ранних сроках и пике обострения, в фазу альтернативно-деструктивных процессов преобладает повышение уровня ИЛ-1, -6, ИФН- γ , ФНО- α , при нарастании регенераторно-восстановительных процессов – ИЛ-4, -10. Это дает возможность использовать эти показатели как важные диагностические критерии течения заболевания.

Анализ биохимических показателей крови является показателем состояния гепатобилиарной системы. Корреляционный анализ показателей цитокинового профиля детей, больных ХВГВ в репликативную фазу, показал их взаимосвязь с синдромом цитолиза.

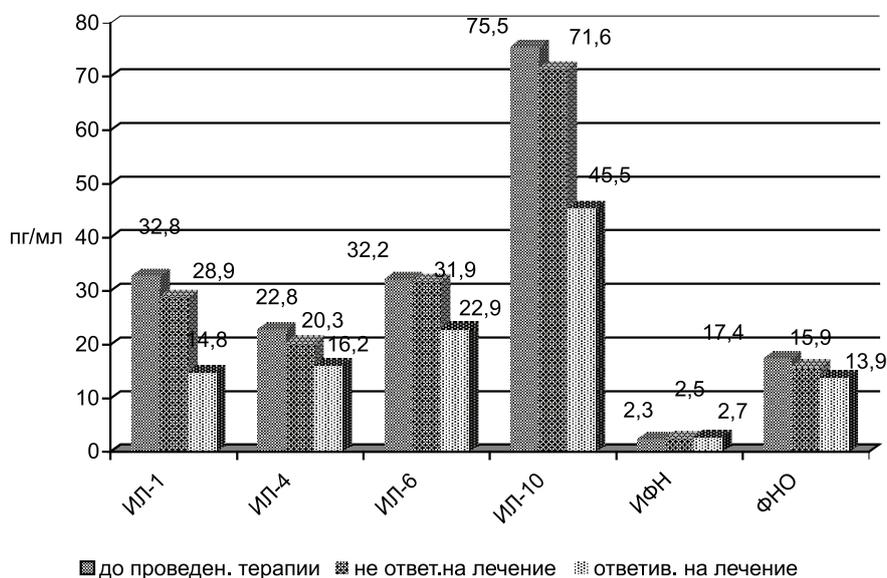
При цитолизе у детей при хроническом вирусном гепатите В в репликативную фазу наблюдались прямая корреляционная связь АлАТ с ИЛ-1: сильная – I группы больных ($r = 0,78$), средние – у II группы пациентов ($r = 0,54$) и у III группы ($r = 0,36$).

Повышение ФНО- α отмечалось у больных с разной активностью трансаминаз, однако наблюдалась тенденция к более выраженному повышению ФНО- α у больных

с более высоким уровнем АлАТ [6]. Отмечались прямые корреляционные связи АлАТ с ФНО- α у детей I группы $r = 0,79$, у II группы $r = 0,51$ и III группы $r = 0,46$.

Показатели ИЛ-10 зависят от стадии и активности заболевания, выявлена

прямая корреляция с уровнем АлАТ [8], что подтверждается нашими наблюдениями. Прямые корреляционные связи ИЛ-10 с АлАТ были у пациентов I группы $r = 0,83$, II группы $r = 0,63$, III группы $r = 0,49$.



Показатели уровня цитокинов в репликативную фазу при хроническом вирусном гепатите В у детей

Учитывая тотальное снижение всех исследуемых параметров системы ИФН, можно сделать вывод о дефекте интерфероногенеза при ХГВ у детей [10]. Наблюдения показали обратные средние корреляционные связи ИФН- γ с АлАТ: у I группы больных ($r = -0,32$), II группы ($r = -0,54$), III группы ($r = -0,68$).

По мере увеличения степени функциональной недостаточности печени происходит нарастание уровня ИЛ-4 в периферической крови [1]. Наблюдались прямые корреляционные связи ИЛ-4 с АлАТ: сильная связь – у I группы пациентов ($r = 0,74$), средняя связь – у II группы ($r = 0,61$) и у III группы ($r = 0,47$).

При повышенных показателях ИЛ-6 в репликативную фазу при хроническом гепатите В у детей отмечались сильные и средние корреляционные связи с АлАТ. Так, у I группы – сильная связь ($r = 0,79$), средняя связь – у II группы ($r = 0,59$) и III группы ($r = 0,42$). По литературным данным, индивидуальный анализ у больных хронической HBV-инфекцией определил зависимость уровня ИЛ-6 от выраженности воспалительного процесса в печени, которая подтверждалась прямой корреляционной связью с такими биохимическими критериями активности заболевания, как АлАТ.

Таким образом, в репликативную фазу при хроническом вирусном гепатите В отмечена патогенетическая роль иммунных нарушений в процессе формирования хронического воспалительного процесса. Прогрессирование ХВГВ у детей в репликативную фазу характеризовалось в начальной стадии заболевания ухудшением клинико-лабораторных показателей на фоне изменения иммунологических показателей.

Выводы

1. Более высокий ИЛ-1 β в группе не ответивших на терапию указывает на то, что у больных наблюдается торпидность к проводимой терапии, что является прогностическим фактором, поэтому данной группе пациентов необходимо усилить терапию.

2. В качестве показателя воспалительного процесса можно рассмотреть уровень ИЛ-1 β , его повышение достоверно коррелирует с АлАТ.

3. Уровень противовоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ФНО- α был достоверно повышен во всех трех группах, что говорит об активном процессе хронизации.

4. Противовоспалительные цитокины ИЛ-4, ИЛ-10 были повышены, что указывает на активацию защитных сил организма.

5. Течение ХВГ сопровождается дисбалансом цитокинов, которое заключается в увеличении показателей ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-6, ФНО- α и снижении ИФН- γ в сыворотке крови больных ХВГВ.

6. Дисбаланс цитокинового профиля говорит об адекватной реакции организма на хронический вирусный гепатит у детей.

Список литературы

1. Астахин А.В. Система регуляторных цитокинов и сывороточного интерферона- α при хронических диффузных заболеваниях печени: автореф. дис. ... д.м.н. – Астрахань, 2004 – 24 с.
2. Белокрыницкий Д.В. Методы клинической иммунологии // Лабораторные методы исследования в клинике; под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – С. 277–311.
3. Жукова Е.А., Каплина Н.А., Романова С.В. и др. Изменения цитокинового статуса при хронических вирусных гепатитах В и С у детей. // Цитокины и воспаление – 2009. – Т.8, № 4. – С. 38.
4. Журкин А.С., Соловьев С.В. Продукция цитокинов и интерферонотерапия у больных хроническими вирусными гепатитами // Эпидемиология – 1999. – № 5. – С. 27–29.
5. Ивашкин В.Т. Взаимодействие вирусов гепатита В и С с клетками иммунной системы макроорганизма // Клиническая лабораторная диагностика – 2001. – № 7. – С. 45–48.
6. Малый В.П., Гололобова О.В. Особенности функционирования иммунной системы при хроническом гепатите С // Международный медицинский журнал – 2007. – № 2. – С. 58–62.
7. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Оценка иммунной регуляции у больных хроническим гепатитом С // Инфекционные болезни. – 2009. – Т.7. № 3 – С. 8–11.
8. Клинико-иммунологические особенности хронического гепатита С в зависимости от генотипа вируса / Ж.Б. Понежева, Б.С. Нагоев, Н.В. Дубинина, О.В. Калужин // Иммунология, аллергология, инфектология. – 2011. – № 2. – С. 26–30.
9. Радченко В.Г., Шабров А.В., Зиновьева Е.Н. Основы клинической гепатологии. Заболевания печени и билиарной системы. – СПб.: Изд-во «Диалект»; М.: 2005. – 864 с.
10. Рыкало Н.А. Функционирование системы цитокинов при вирусных гепатитах у детей // Международный медицинский журнал – 2009. – № 1. – С. 83–86.
11. Фрейдлин И.С. Иммунная система и ее дефекты. – СПб., 1998. – 113 с.
12. Черегинев В.А., Гусев Е.И. Иммунология воспаления: роль цитокинов // Мед. иммунология. – 2001. – Т.3, № 3. – С. 361–368.
13. Цитокиновый профиль при циррозах печени / Е.Р. Черных, Н.М. Старостина и др. // Медицинская иммунология – 2006. – Т.8, № 4. – С. 523–543.
14. Протокол диагностики и лечения больных вирусными гепатитами В и С / Н.Д. Ющук, Е.А. Климова, О.О. Знойко и др. // Российский журнал гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – М., 2010. – Т.XX, № 6. – С. 4–50.
15. Spanakis N.E., Garinis G.A., Alexopoulos E.C. Cytokine serum levels in patients with chronic HCV infection // J Clin Lab Anal. – 2002. – № 16(1) – P. 40–46.

References

1. Astachin A.V. System of regulating cytokines and serumal interferon- α 2b at the diffuse diseases of a liver: Autoref. dis. d.m.n. Astrachan 2004 24p.
2. Belokrinizkiy D.V. Methods of clinical immunology / Laboratory methods of research in clinic Under edit.. V.V. Menshikov. M: Medicine, 1987. pp. 277–311.
3. Zhukova E.A., Kaplina N.A., Romanova S.V., etc. Change the status cytokines at a chronic virus hepatitis B and C at children // Cytokines and an inflammation 2009. T.8 no. 4. pp. 38–39.
4. Zhurkin A.S., Solovyev S.V Production of cytokines and interphysinum at sick of a chronic virus hepatitis // Epidemiology 1999. no. 5. pp. 27–29.
5. Ivashkin V.T. Interaction of viruses of a hepatitis B and C with cells of immune system of a macroorganism // Clinical laboratory diagnostics 2001. no. 7. pp. 45–48.
6. Malyj V.P., Gololobova O.V. Feature of functioning of immune system at a chronic hepatitis With // the International medical magazine 2007. no. 2. pp. 58–62.
7. Nagoev B.S., Ponegeva B.S. Estimation of immune regulation at sick of a chronic hepatitis C // Infectious diseases 2009. T.7. no. 3 pp. 8–11.
8. Ponezheva Z.B., Nagoev B.S., Dubinina N.V., Kaluzhin O.V. Cliniko of feature of a chronic hepatitis C depending on a genotype of a virus // Immunology, allergology, infectology. 2011. no. 2. pp. 26–30.
9. Radchenko V.G., Shabrov A.V., Zinovyeva E.N. Bas clinical hepatothology. Diseases of a liver and biliarnic systems. SpB.: Publishing house «Dialect»; M.: 2005. pp. 171–173.
10. Rikalo N.A. Functioning of system cytokines at a virus hepatitis at children // The International medical magazine 2009. no. 1. pp. 83–86.
11. Freidlin I.S. The immune system and its defects. St.-Petersburg: S.Pt. 1998. 113 p.
12. Chereginiev V.A., Gusev E.I. Immunology an inflammation: a role cytokines //Med. Immunology. 2001. T.3, no. 3. pp. 361–368.
13. Chernyh E.R., Starostina N.M., etc. A structure of cytokines at cirrhoses of a liver // Medical immunology 2006. T.8 no. 4. pp. 523–543.
14. Jushchuk N.D., Klimova E.A., Znojko O.O., etc. The report of diagnostics and treatment sick of a Virus Hepatitis B and C // The Russian magazine Gastroenterolog., hepatothol., coloproct. 2010. T.XX, no. 6. pp. 4–50.
15. Spanakis N.E., Garinis G.A., Alexopoulos E.C. Cytokine serum levels in patients with chronic HCV infection // J Clin Lab Anal. 2002 16(1) pp. 40–46.

Рецензенты:

Русакова Н.В., д.м.н., профессор кафедры госпитальной педиатрии ГБОУ ВПО Самарского государственного медицинского университета, г. Самара;

Печкуров Д.В., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой детских болезней ГБОУ ВПО Самарского государственного медицинского университета, г. Самара.

Работа поступила в редакцию 29.11.2012.