

Е.А. ЗАЙЦЕВА

Самарский государственный медицинский университет

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ
НВЕАГ-НЕГАТИВНЫМ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ В С РАЗНЫМ
УРОВНЕМ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ**

В проведенном нами исследовании среди пациентов с НВeAg-негативным ХГВ, n=132 проанализирована взаимосвязь вирусной нагрузки с результатами клинического, биохимического и иммунологического (IL-2, INF- α , INF- γ) обследования. Установлено, что 75% больных НВeAg-негативным ХГВ имели вирусную нагрузку свыше 20.000 МЕ\мл (n=99), в остальных случаях количество вируса в сыворотке крови было ниже 20.000 МЕ\мл (n=35). Эти пациенты составили две группы сравнения, в качестве группы контроля исследовалась кровь здоровых доноров, n=50. В результате исследования было выявлено, что у больных с более высокой вирусной нагрузкой такие клинические синдромы как астеновегетативный и гепатомегалия, а также изменения биохимических показателей (повышение уровня общего билирубина, АлАТ, АСАТ, ГГТ) – встречались значимо чаще (p<0,001) по сравнению как с группой сравнения, так и с группой контроля. Показатели цитокинового статуса (IL-2, INF- α , INF- γ) при первичном обследовании больных имели достоверные различия в зависимости от исходного уровня вирусной нагрузки в сыворотке крови. При количестве вируса свыше 20.000 МЕ\мл наблюдалось выраженное снижение концентрации цитокинов, при содержании ДНК HBV ниже 20.000 МЕ\мл их уровень был близок к референсным значениям. Низкий уровень цитокинов IL-2, INF- α , INF- γ у больных НВeAg-негативным ХГВ с высокой вирусной нагрузкой можно объяснить следствием негативного влияния на иммунную систему длительной персистенции HBV.

Ключевые слова: *хронический вирусный гепатит В, вирусная нагрузка, IL-2, INF- α , INF- γ .*

Зайцева Екатерина Александровна – заочный аспирант кафедры инфекционных болезней с курсом эпидемиологии. E-mail: ekasokova@mail.ru

E.A. ZAYCEVA

Samara State Medical University

**CLINICAL AND LABORATORY CHARACTERISTICS OF PATIENTS
WITH HBEAG-NEGATIVE CHRONIC HEPATITIS B WITH
DIFFERENT LEVELS OF VIRAL LOAD IN THE SERUM**

Our study demonstrates the relationship between of viral load with clinical, biochemical and immunological (IL-2, INF- α , INF- γ) tests in patients with HBeAg-negative HBV, n=132 analyzed the relationship. It was found that 75% of patients with HBeAg-negative HBV had viral load more than 20,000 IU\ml (n=99), in other cases, the amount of virus in the blood serum was below 20.000 IU\ml (n=35). These patients comprised two comparison groups, in the control group the blood of healthy donors was studied, n=50. The study revealed that patients with a higher viral load such as clinical syndromes asthenovegetative and hepatomegaly, and changes in biochemical parameters (increased levels of total bilirubin, Alt, AST, GGT) were significantly more common (p<0.001) compared to both the comparison group and the control group. Cytokine status indicators (IL-2, INF- α , INF- γ) in initial examination of patients had significant differences depending on the initial level of viral load in the serum. When the amount of virus was over 20,000 IU\ml there was observed decrease in the concentration of cytokines, in HBV DNA below 20.000 IU\ml their level was close to reference values. The low level of cytokines IL-2, INF- α , INF- γ in patients with HBeAg-negative HBV and high viral load can be explained by the consequence of the negative impact on the immune system due to long-term persistence of immunological body reaction in HBV.

Key words: *chronic viral hepatitis B, viral load, IL-2, INF- α , INF- γ*

Ekaterina Aleksandrovna Zayceva – Postgraduate student of the Chair of Infectious Diseases with Course of Epidemiology, Doctor at the Infectious Diseases Department № 2, Samara State Medical University. E-mail: ekasokova@mail.ru

В настоящее время хронический вирусный гепатит В остаётся одной из основных проблем инфектологии. Высокий уровень инфицированности ВГВ (2 млрд человек в мире, из них более 400 млн в стадии хронического гепатита), тяжесть исходов (цирроз печени, ГЦК), недостаточная эффективность и высо-

кая стоимость противовирусной терапии определяют медицинскую и социальную значимость этой инфекции [7, 8, 9]. Особое значение имеет группа пациентов HBeAg-негативным ХГВ, как самая многочисленная среди всех инфицированных ВГВ в России и наиболее сложная для этиотропного лечения [2]. Одной из причин неудачи противовирусной терапии у больных ХГВ является существующая исходно и усугубляемая или приобретаемая пациентом в процессе длительно существующего инфекционного процесса дисфункция системы цитокиновой регуляции, с формированием впоследствии структурно-морфологического дисбаланса всей системы иммунореактивности [1, 3, 4]. Изучение клинико-лабораторных особенностей, включая систему цитокинов, у больных в разных стадиях инфекционного процесса ХГВ: стадии иммунного контроля и иммунной толерантности – является актуальной задачей.

Цель исследования: дать клинико-лабораторную, включая иммунологическую (IL-2, INF- α , INF- γ), характеристику больным HBeAg-негативным хроническим гепатитом В с разным уровнем вирусной нагрузки в сыворотке крови.

Материалы и методы исследования

Под наблюдением в Самарском областном гепатологическом центре Клиник СамГМУ находились больные ХГВ (n=336) в фазе репликации вируса (ДНК HBV+), с генотипом Д в 78% случаев. Диагноз хронического гепатита В был верифицирован на основании клинико-эпидемиологических, биохимических, серологических и молекулярно-биологических данных [5]. Определение вируса гепатита В (качественно и количественно) проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с помощью набора реагентов «РеалБест ДНК ВГВ» (ЗАО «Вектор Бест», г. Новосибирск). Содержание цитокинов в плазме определялось с помощью наборов реагентов ЗАО «Вектор-бест», основным компонентом которых являются моноклональные антитела к изучаемым интерлейкинам и интерферонам, сорбированные на поверхности лунок полистирольного планшета или набором реагентов ProCon для изучения состояния параметров IL-2, IFN- α , IFN- γ . Для статистической обработки использовались методы статистического анализа с применением пакета прикладных программ Statistica 8.0 для Windows [6].

Результаты

Среди больных вирусным гепатитом, наблюдаемых в Самарском областном гепатологическом центре на базе клиники

инфекционных болезней СамГМУ, была выделена группа пациентов (n=132) с HBeAg-негативным ХГВ, генотипа Д (100%), с относительно недавним заражением (менее 10 лет). Это были больные в возрасте 22-54 лет, преимущественно женщины (56%). При их первичном обращении регистрировались следующие жалобы: все пациенты (100%) отмечали повышенную утомляемость (слабость, снижение трудоспособности), а также головную боль (87,3%), тяжесть (97,3%) и боли в правом подреберье (57,2%), снижение аппетита (97,3%), боли в эпигастрии (44,5%), тошноту (57,3%), метеоризм (70,9%), дискомфорт в животе (90,9%), кожный зуд (5,4%). При объективном обследовании пациентов выявлено: увеличение печени и изменение её плотности (81%), увеличение селезёнки (8,2%), наличие геморрагического синдрома (17,21%), внепечёночные знаки поражения печени (22%).

При проведении количественного анализа ДНК HBV в сыворотке крови методом ПЦР вирусная нагрузка более 20.000 МЕ\мл была зарегистрирована в 75% случаев, в остальных – ниже 20.000 МЕ\мл (таблица 1). Эти пациенты составили две группы сравнения. В качестве группы контроля исследовалась кровь здоровых доноров n=50.

Таблица 1

Характеристика групп больных HBeAg-негативным ХГВ по уровню вирусной нагрузки

Группа	Значение вирусной нагрузки	Количество больных, n=132	
		Абс.	%
1	Свыше 20.000 МЕ\мл	99	75
2	Менее 20.000МЕ\мл	35	25

В результате клинического обследования у больных HBeAg-негативным ХГВ в 1 группе (с более высокой вирусной нагрузкой) были выявлены следующие синдромы: у 93,9% – астеновегетативный синдром (повышенная утомляемость, раздражительность, расстройство сна, снижение работоспособности и общая слабость, недомогание, неустойчивость настроения, головная боль), у 91,9% – диспепсический синдром (снижение аппетита, неприятные ощущения в животе, тошнота, метеоризм, отрыжка, а у отдельных больных рвота). У 92,9% отмечалась тяжесть и/или боль в эпигастрии и/или в правом подреберье (синдром правого подреберья), имевшая преимущественно тупой, ноющий характер. Гепатомегалия

ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ

регистровалась у 72,2% пациентов данной группы, увеличение печени сопровождалось уплотнением её консистенции и умеренной болезненностью при пальпации. Астеновегетативный синдром и гепатомегалия у пациентов 2 группы сравнения наблюдались в 34,3% и 22,8% случаев соответственно, что значимо отличалось от результатов в 1 группе, $p < 0,001$ (рис. 1). Изданных гистограммы видно, что частота встречаемости ведущих синдромов максимально выражена в 1 группе больных.

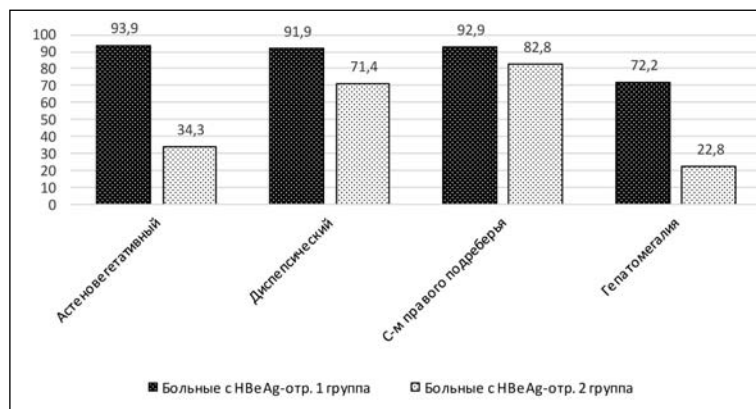


Рис. 1. Частота встречаемости ведущих клинических синдромов у НВсAg-негативных больных ХГВ с различным уровнем вирусной нагрузки (%)

При исследовании биохимических показателей были получены следующие данные (таблица 2).

Содержание АлАТ в сыворотке крови в 1-ой группе больных, имеющих более

высокую вирусную нагрузку, составило $96,93 \pm 7,93$ ед/л, что было выше показателей 2-ой группы больных ($27,00 \pm 0,62$ ед/л) и здоровых доноров ($16,06 \pm 0,57$), ($p < 0,001$). В свою очередь, при более низкой вирусной нагрузке этот показатель оставался в пределах референсных значений. Такая же тенденция была зафиксирована по значениям АсАТ, которые в группе пациентов с более высокой вирусной нагрузкой были выше и составили в среднем $70,23 \pm 5,40$ ед/л. Содержание

щелочной фосфатазы и гамма-глутамин-транспептидазы у больных 1-ой группы было повышенным более значимо, чем во 2-й группе пациентов: щелочная фосфатаза ($140,50 \pm 4,96$ ед/л $122,84 \pm 2,93$ ед/л, соответственно); гамма-глутамин-транспептидаза ($69,78 \pm 3,98$; $21,97 \pm 0,85$ ед/л, соответственно). Эти показатели по сравнению с группой контроля были выше в обеих группах.

Содержание ИЛ-2 в сыворотке крови в 1-ой группе больных, имеющих более высокую вирусную нагрузку, составило $6,86 \pm 1,17$ пг/мл и было значительно ниже показателей 2-ой группы боль-

Таблица 2

Сравнительная характеристика НВсAg-негативных больных ХГВ с различным уровнем вирусной нагрузки, (M \pm m)

Показатель	Референсные значения	Здоровые доноры (К) n=50	Группа 1 n=99	Группа 2 n=35	p к-1	p к-2	p 1-2
Возраст	-	34,60 \pm 1,68	38,70 \pm 1,52	36,68 \pm 1,63	0,081	0,380	0,252
Le, x 10 ⁹ /л	4,0*10 ⁹ /л-9,0*10 ⁹ /л	4,60 \pm 0,17	5,05 \pm 0,16	4,64 \pm 0,13	0,062	0,858	0,079
Эр, x 10 ⁹ /л	4,0*10 ¹² /л-5,5*10 ¹² /л.	4,44 \pm 0,03	4,44 \pm 0,05	4,47 \pm 0,04	0,837	0,543	0,513
Tromb, x 10 ⁹ /л	149-409Ч109/л	242,92 \pm 10,57	211,68 \pm 7,74	240,71 \pm 5,45	0,025	0,873	0,011
Общий билирубин	8,5 - 20,5 мкмоль/л	5,63 \pm 0,81	19,56 \pm 1,21	6,83 \pm 0,36	<0,001	0,216	<0,001
АлАТ, Ед/л	до 35 ед/л	16,06 \pm 0,57	96,93 \pm 7,93	27,00 \pm 0,62	<0,001	<0,001	<0,001
АсАТ, Ед/л	до 37 ед/л	16,82 \pm 0,42	70,23 \pm 5,40	18,34 \pm 1,14	<0,001	0,499	<0,001
ЩФ, Ед/л	30 - 110 ед/л	106,58 \pm 1,54	140,50 \pm 4,96	122,84 \pm 2,93	<0,001	<0,001	0,019
ГГТП, Ед/л	до 40 ед/л	20,98 \pm 0,73	69,78 \pm 3,98	21,97 \pm 0,85	<0,001	0,363	<0,001
Общий белок, г/л	60 - 85 г/л	72,02 \pm 1,37	67,73 \pm 0,91	68,03 \pm 0,28	0,015	<0,001	0,061
Альбумин, г/л	35 - 50 г/л	47,78 \pm 0,14	44,55 \pm 0,58	45,08 \pm 0,10	<0,001	<0,001	0,519

Результаты исследования показателей цитокинового статуса у HBeAg-негативных больных ХГВ с различным уровнем вирусной нагрузки, (M±m)

Показатель	Референсные значения	Здоровые доноры (К) n=50	Группа 1 n=99	Группа 2 n=35	p к-1	p к-2	p 1-2
ИЛ-2	0-2 пг\мл	19,85±0,23	6,86±1,17	19,77±0,29	<0,001	0,849	<0,001
INF-α	0-45 пг\мл	40,17±0,50	26,99±1,17	40,10±0,64	<0,001	0,853	<0,001
INF-γ	0-50 пг\мл	98,94±2,71	36,50±5,10	100,42±2,21	<0,001	0,538	<0,001

ных (19,77±0,29 пг\мл) и здоровых доноров (19,85±0,23 пг\мл), (p<0,001). В свою очередь, при более низкой вирусной нагрузке этот показатель оставался в пределах референсных значений. При исследовании уровня INF-α наблюдалась такая же тенденция. У больных с высоким уровнем вирусной нагрузки показатель INF-α был значительно снижен.

При изучении показателей уровня INF-γ было зафиксировано снижение его значений в 1-ой группе (36,50±5,10 пг\мл) и незначительный подъём (100,42±2,21 пг\мл) - во 2-ой группе пациентов, p<0,001. Таким образом, выявленные изменения содержания в сыворотке крови INF-γ у больных HBeAg-негативным ХГВ в группах сравнения отличались от зафиксированных тенденций уровня ИЛ-2, INF-α.

Кроме того, была обнаружена связь между изменениями уровня ИЛ-2, INF-α и степенью биохимической активности процесса. Так, у больных во 2-ой группе пациентов, у которых регистрировалась нормальные значения цитолитической активности (АлТ-27,00±0,62 Ед\мл), уровень ИЛ-2 составил 19,77±0,29 пг\мл, INF-α - 40,10±0,64 пг\мл, они не отличались от здоровых доноров. У пациентов 1-ой группы при высоких значениях АлАТ (96,93±7,93Ед\мл) - ИЛ-2 и INF-α были снижены до 6,86±1,17 и 26,99±1,17 соответственно, p<0,001.

Выводы

Больные HBeAg-негативным ХГВ с более высокой вирусной нагрузкой характеризуются более выраженными клиническими проявлениями (астеновегетативный и гепатомегалия, p<0,001).

При изучении уровня биохимических показателей в группе с наиболее высокой вирусной нагрузкой наблюдалось значимое повышение уровня общего билирубина, АлАТ, АСАТ, ГГТП, в сопоставлении как с группой сравнения, так и с группой контроля.

Изменения отдельных показателей цитокинового статуса (ИЛ-2, INF-α, INF-γ) при

первичном обследовании больных имели различия в зависимости от уровня вирусной нагрузки в сыворотке крови. При более высоком уровне вируса наблюдалось значимое снижение значений ИЛ-2, INF-α, INF-γ. Низкий уровень цитокинов ИЛ-2, INF-α, INF-γ у больных HBeAg-негативным ХГВ с высокой вирусной нагрузкой можно объяснить следствием негативного влияния на иммунную систему длительной персистенции HBV.

Список литературы

1. Габдрахманов И.А. [и др.] Взаимосвязи вирусологических и морфологических показателей в фазах иммунного контроля и реактивации у больных хроническим гепатитом В // Журнал инфектологии. – Т.7. – № 4. – 2015. – С.37-41.
2. Жданов К.В. Вирусные гепатиты – СПб.: ИКФ «Фолиант», 2011. – 26 с.
3. Ивашкин В.Т. Иммунная система и повреждения печени при хронических гепатитах В и С // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2009. – №6. – С. 4-10.
4. Ивашкин В.Т. Механизмы иммунной толерантности и патологии печени // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2009. – № 2. – С. 8-13.
5. Карандашова И.В., Чуланов В.П. Особенности лабораторной диагностики инфекций. Вирусные гепатиты. Гепатит В // Лабораторная диагностика инфекционных болезней. Справочник / Под ред. В.П. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А. Шипулина. – М.: БИНОМ, 2013. – С. 62-74.
6. Юнкеров В.И. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований / В.И. Юнкеров, С.Г. Григорьев. – 2-е изд., доп. – СПб.: ВМедА, 2005 – 292 с.
7. EASL clinical practice guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. – J Hepatol. – 2012. – 57(1). – P. 167-185.
8. Stasi C. et al. The epidemiological changes of HCV and HBV infections in the era of new antiviral therapies and the antiHBV vaccine. – Journal of infection and public health. – 2015 Jul 4. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science>.
9. World Health Organization. Hepatitis B Fact sheet. – July 2012. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>. Accessed November 1, 2012.