

На правах рукописи

Бузина Анна Борисовна

**Диагностическое и прогностическое значение спектра антител
к антигенам HCV при остром и хроническом гепатите С.**

14.00.10 - инфекционные болезни

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Казань – 2004

Диссертация выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования Нижегородской государственной медицинской академии Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор

Корочкина Ольга Владимировна

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, доцент

Закиров Ильдар Галеевич

доктор медицинских наук, доцент

Созинов Алексей Станиславович

Ведущая организация: Российская Военно-медицинская академия,

г. Санкт-Петербург

Защита состоится “16” марта 2005 г. в 13 час. 00 мин.

на заседании диссертационного совета К. 208.034 ГОУ ВПО Казанского государственного медицинского университета по адресу: 420012 г. Казань, ул. Бутлерова, 49.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ГОУ ВПО Казанского государственного медицинского университета (ул. Бутлерова, 49 “Б”).

Автореферат разослан “15” февраля 2005 г.

Ученый секретарь

специализированного совета,

д-р мед наук, профессор

В.Х. Фазылов

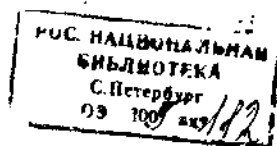
ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Вирусные гепатиты представляют широкомасштабную проблему, еще далекую от своего решения. Наибольшую угрозу для здоровья населения представляет гепатит С. На долю HCV-инфекции приходится 20% острых и 70% хронических гепатитов, 40% циррозов печени и 60% случаев гепатоцеллюлярной карциномы (Sherlock S., 1999, Семенов Т.А., 2000). К настоящему времени в мире насчитывается более 500 млн. носителей HCV (Балаян М.С., 1999).

В лабораторной диагностике гепатита С основная роль принадлежит определению антител к HCV и выявлению HCV РНК. Обнаружение вирусной РНК в крови остается "золотым стандартом" диагностики. Однако, метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) пока не является общедоступным и регламентированным при обследовании больных вирусным гепатитом, сам по себе не позволяет дифференцировать острый гепатит от хронического (Ballardini G. et al., 1997, Chayama K. et al., 1997). В связи с этим, диагностика гепатита С по оценке антительного спектра к белкам HCV является особенно актуальной. Антитела образуются к каждому из вирусных белков, кодируемых разными областями генома, обладают специфичностью, а значит и разной диагностической информативностью (Михайлов М.И., 2001, Николаева Л.И., 2003). Вместе с тем, нет общепринятых четких серологических критериев, позволяющих по антительному спектру в ранние сроки диагностировать острый гепатит С, прогнозировать исход острой фазы.

При хроническом гепатите С остается нерешенным вопрос о характеристике антительного спектра при разной активности инфекционного процесса, связи с морфологическими изменениями в печени, что при отсутствии возможности определения РНК HCV позволит оценить течение болезни. Немногочисленны данные о динамике антительного ответа в процессе противовирусной терапии и в прогнозировании эффективности лечения. его значения

Потребности практической медицины, интересы больных, а также анализ и систематизация литературных материалов позволили выде-



лить нерешенные вопросы, которые и определили необходимость данного исследования.

Цель исследования. определение серологического профиля к белкам HCV при остром и хроническом гепатите С, оценка его значения для прогнозирования исходов острой фазы и ответа на противовирусную терапию при хроническом течении.

Задачи исследования:

1. Изучить динамику антител к структурному и неструктурным белкам HCV при остром гепатите С у больных в разных возрастных и половых группах, при различных путях инфицирования, тяжести болезни и показателях АлАТ, репликативной активности HCV.

2. Определить динамику серологического профиля к антигенам HCV в зависимости от исхода острого гепатита С.

3. Оценить диагностическое значение антител к структурному и неструктурным белкам HCV при хроническом гепатите С у больных с разной демографической характеристикой, клинико-биохимической картиной, репликативной активностью HCV и гистологическими изменениями в печени.

4. Изучить динамику антител к белкам HCV у больных хроническим гепатитом С, получающих противовирусную терапию, и выяснить их прогностическое значение для проведения эффективного лечения.

Научная новизна:

1. Установлена зависимость частоты индикации антител к структурному (анти/HCVcoreIgM) и неструктурным (анти/HCVns3, анти/HCVns5) белкам HCV от характеристики эпидемиологического анамнеза при остром гепатите С.

2. Впервые описана высокая частота обнаружения антител к структурному и неструктурным белкам HCV у больных с выраженными клинико-биохимическими проявлениями острого гепатита С.

3. Получены данные о связи синтеза анти/HCVcoreIgM, анти/HCVns3 и анти/HCVns5 с активностью репликации HCV при остром и хроническом гепатите С.

4. Впервые показано прогностическое значение динамического контроля за серологическим профилем к белкам HCV для оценки исходов острого гепатита С и эффективности противовирусной терапии при хроническом гепатите С.

Практическая значимость работы.

1. Комплексный контроль за антителами к структурному и неструктурным белкам HCV и АлАТ в течение острой фазы гепатита С позволяет прогнозировать исход болезни.

2. Установлена связь между уровнем репликации вируса и показателями антител к белкам HCV, что позволяет судить об эффективности противовирусной терапии.

Положения, выносимые на защиту:

1. Характеристика антительного ответа к HCV при остром гепатите С связана с массивностью и кратностью инфицирования, полом и возрастом больного, отражает репликативную активность HCV и не зависит от тяжести болезни. Это может быть использовано для прогнозирования исхода острой фазы болезни.

2. Анти/HCVcoreIgM и анти/HCVns5 отражают репликативную активность HCV и степень изменения биохимических показателей при хроническом гепатите С.

3. Динамический контроль за анти/HCVcoreIgM, анти/HCVns3 и анти/HCVns5 больного хроническим гепатитом С в процессе противовирусной терапии может иметь значение для прогноза эффективности лечения.

Внедрение результатов исследования в практику здравоохранения:

Результаты исследования внедрены в практику работы Нижегородского гепатологического центра на базе 2-ой инфекционной клинической больницы, учебный процесс на кафедре инфекционных болезней ГОУ ВПО НижГМА Министерства здравоохранения и социального развития России, на цикле повышения квалификации врачей.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены на заседании предметной проблемной комиссии по научным проблемам

инфекционных болезней Нижегородской государственной медицинской академии, Научной конференции и VIII съезде Итало-Российского общества по инфекционным болезням “Проблема инфекции в клинической медицине” (5-6 декабря 2002 года), С-Пб., VI Российском съезде врачей-инфекционистов (29-31 октября 2003 г.), конференции “Эпидемиология, диагностика и лечение вирусных гепатитов в Приволжском Федеральном Округе”, Н.Новгород (2003 г.), Третьей Научной сессии “Современное решение актуальных научных проблем в медицине”, г.Н.Новгород (18 марта 2004 г.).

Публикации: по теме диссертации опубликовано 7 научных работ, из них 2 журнальные статьи – в центральной печати.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 182 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, содержащего 289 источников. Диссертация документирована 12 выписками из историй болезни, иллюстрирована 21 таблицей и 61 рисунком.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось в Нижегородском гепатологическом центре, на кафедре инфекционных болезней ГОУ ВПО НижГМА (зав. кафедрой д.м.н. профессор Корочкина О.В.), на базе 2-ой инфекционной клинической больницы (гл. врач к.м.н. Малышев Ю.В.) в течение 2000-2003 гг.

В соответствии с поставленными в работе задачами, исследования проведены у 223 больных (79 – с ОГС, 103 больных – с ХГС). Отдельную группу составили 41 больной ХГС, получившие комбинированную противовирусную терапию (ПВТ). В группу больных ОГС вошли 49 мужчин и 30 женщин, в возрасте от 18 до 65 лет, средний возраст 25,7-+1,3 лет. В зависимости от исхода, все больные ОГС были разделены на

2 группы. Первую группу составили 17 больных у которых в течение 2 лет после ОГС зарегистрирована полная стабильная ремиссия, называемая далее выздоровлением (отсутствие клинической симптоматики, в т.ч. гепатоспленомегалии, нормализация АЛАТ, отсутствие динамики антител к белкам HCV и исчезновение HCV РНК). Вторую группу составили 62 больных с хронизацией.

Было обследовано также 103 больных ХГС, 58 мужчин (56,3%) и 46 женщины (43,7%) в возрасте от 18 до 65 лет, средний возраст 26,3±0,8 лет. Поскольку анти/HCVcoreIgG, анти/HCVns3 и анти/HCVns4 выявлялись у всех больных ХГС, в основу разделения их на группы легли результаты индикации анти/HCVcoreIgM и анти/HCVns5. В 1 группу вошли 60 больных с положительными результатами анти/HCVcoreIgM. Вторую группу составили 43 больных, у кого анти/HCVcoreIgM постоянно отсутствовали. Аналогичным образом все больные ХГС были разделены на группы с положительными (57 больных) и отрицательными (46) результатами индикации анти/HCVns5.

41 больной ХГС получили комбинированную ПВТ (α -интерферон+рибавирин) в течение 24-48 недель. Среди них было 18 мужчин и 23 женщины, в возрасте от 19 до 55 лет, средний возраст составил 28,5±1,5 лет. По результатам лечения было выделено 2 группы больных. Первую группу составили 33 больных с достигнутым устойчивым вирусологическим ответом (УВО – отсутствие HCV РНК и нормализация АЛАТ в течение 2 лет после окончания ПВТ). Во 2 группу вошло 8 больных с рецидивом (повторное появление HCV РНК и повышение уровня АЛАТ после завершения лечения).

При постановке диагноза острого и хронического гепатита С использовались общепринятые клинико-эпидемиологические и биохимические критерии (Соринсон С.Н., 1998). Верификация диагноза проводилась путем индикации специфических маркеров HCV (анти/HCVcoreIgM, анти/HCVcoreIgG, анти/HCVns3,4,5, HCV РНК) методом иммуноферментного анализа (ИФА) и ПЦР. Проводилась индикация маркеров HAV, HBV, HDV для исключения суперинфекции гепатитами А, В, D. Все

больные были обследованы в динамике. Больные ОГС обследовались при поступлении в стационар и в течение первого месяца еженедельно. Далее, в течение 6 месяцев, 1 раз в месяц проводилось биохимическое исследование, определение маркерного спектра и HCV РНК. Больные, в т ч и после ПВТ, наблюдались в течение 2-5 лет. Всем им биохимическое и серологическое обследование проводилось в том же объеме не реже 1 раза в 3 месяца, РНК - не реже 1 раза в 6 месяцев. Обследование больных, получавших ПВТ, проводилось на 4, 8, 12, 24, 48 неделях лечения, а также на 4, 12, 24, 48, 72 неделях после ее завершения. У 32 больных ХГС была проведена пункционная биопсия печени с целью сравнения степени гистологических изменений в печени при разных значениях а/HCVcoreIgM и а/HCVns5.

Статистическая обработка материалов и анализ результатов, полученных при исследованиях, проводились на компьютере с использованием пакета программ "Бисстат". Применялись статистические критерии Стьюдента, Фишера, Крускала-Уоллиса, хи-квадрат, коэффициент ранговой корреляции Спирмена. достоверность коэффициента корреляции (p^*). Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.

При ОГС динамика антителообразования изучалась прежде всего в зависимости от характеристики больных. С учетом возраста, были выделены полярные группы больных – младше 25 лет и старше 35 лет. В течение 1 мес. болезни анти/HCVcoreIgM выявлялись у большинства молодых больных (у 17 из 21) и лишь у 8 из 18 больных старше 35 лет ($p=0,024$). Это подтверждало данные Tanaka G. et al. (2004) о более активном антителообразовании у лиц молодого возраста. К 3 мес. возрастные различия нивелировались: анти/HCVcoreIgM определялись в среднем у 1/3 больных обеих групп. К исходу 6 мес. число анти/HCVcoreIgM-положительных больных вновь увеличилось, но преимущественно за счет лиц

старше 35 лет (12 из 18, среди молодых – 6 из 21, $p=0,026$). Именно у них была отмечена преимущественная хронизация ОГС (соответственно, у 15 из 18 и у 9 из 21, $p=0,019$). Анализ динамики анти/НСVcoreIgG у больных разного возраста достоверно значимых различий не выявил. Антитела к неструктурным белкам НCV (анти/НСVns3,4,5) в течение острой фазы ГС достоверно чаще выявлялись у больных старшего возраста.

При сопоставлении динамики антител с полом больных, было установлено более раннее появление анти/НСVcoreIgM у женщин. Так, в первые 3 мес. болезни анти/НСVcoreIgM выявлялись у большинства женщин и лишь у половины мужчин ($p<0,0001$). Однако к 6 мес. ситуация изменилась: антитела этого класса стали чаще определяться у мужчин (у 34), а у женщин реже (у 13). Сопоставление этих результатов с исходами подтвердило более частую хронизацию именно у мужчин (у 43 из 49). Динамика анти/НСVcoreIgG и анти/НСVns4 у мужчин и женщин была близкой в течение всего наблюдения. С увеличением длительности болезни частота их индикации постепенно нарастала. С другой стороны, динамика анти/НСVns3 и анти/НСVns5 была связана с полом больных и репликативной активностью НCV. Они достоверно чаще определялись у мужчин во все сроки наблюдения. У женщин анти/НСVns3 и анти/НСVns5 либо постоянно отсутствовали (соответственно, у 4 и 22 из 30), либо исчезали к 6-12 мес. (у 3 и 5). Этому соответствовала и большая частота благоприятного исхода ОГС (у 11 из 30, 36,7%). Среди мужчин выздоровление зафиксировано лишь у 6 из 49 (12,2%), $p=0,023$.

Установление связи антителообразования с исходной характеристикой больных потребовало оценки значения инфицирующей дозы. С этих позиций мы оценивали возможную массивность заражения и кратность инфицирования. При первичном обследовании у больных с заражением через однократные медицинские манипуляции (малая доза) анти/НСVcoreIgM выявлялись у большинства из них (у 13 из 14, 92,9%). С другой стороны, у больных, получивших при гемотрансфузиях предположительно большую инфицирующую дозу, антитела определялись только у

5 из 11 (45,5%, $p=0,021$). Подобная тенденция сохранялась до 3 мес. болезни, что связано с генетической однородностью HCV в первом случае и, следовательно, полноклюнным иммунным ответом (Klempner P. et al., 1998, Семененко Т.А., 2000) Рост частоты индикации анти/HCVcoreIgM был отмечен к 6 мес. болезни и был более значительным уже у больных с высокой инфицирующей дозой (у 10 из 11, $p=0,042$). Соответственно, в этой группе зарегистрировано более частое формирование ХГС (у 10 из 11) Контроль за динамикой анти/HCVcoreIgG подтвердил отсутствие их связи с величиной инфицирующей дозы. Результаты исследования частоты индикации антител к неструктурным белкам вируса гепатита С выявили иные закономерности. В первые 3 мес. в целом отмечено постепенное нарастание частоты выявления анти/HCVns3. Однако к 6 мес. у 3 из 14 больных (21,4%) с малой первоначальной инфицирующей дозой анти/HCVns3 перестали определяться. Данный факт рассматривался как вероятное прекращение репликации HCV и возможность выздоровления. С другой стороны, у большинства больных, получивших более высокую инфицирующую дозу анти/HCVns3 сохранялись в течение всего срока наблюдения (у 8 из 11, 72,7%). Именно у них развился ХГС ($p=0,04$). Общая картина динамики анти/HCVns4 и анти/HCVns5 у больных с низкой и высокой инфицирующей дозой была в целом сходной. В течение первых 6 мес. отмечался рост частоты их выявления. Длительное обнаружение анти/HCVns4 и анти/HCVns5 у больных с высокой инфицирующей дозой в более поздние сроки соответствовало хронизации. Развитие ХГС при подобной динамике зарегистрировано у 9 из 11 больных (81,8%) Вместе с тем, сохранение анти/HCVns4 и анти/HCVns5 у больных с низкой инфицирующей дозой не предопределяло хронизацию: ХГС в данном случае зарегистрирован достоверно реже (у 3 из 14, 21,4%, $p=0,005$). Длительное выявление анти/HCVns4 и анти/HCVns5 в сочетании с более высокой частотой хронизации установлено у больных с предполагаемым многократным инфицированием. Так, у всех 16 больных, заразившихся в процессе длительного (свыше 6 мес.) употребления наркотиков, с сохранением анти/HCVns4 и/или

анти/НСVns5 больше 6 мес. зарегистрирован ХГС. В группе больных, употреблявших наркотические средства однократно, такая динамика антител отмечена значительно реже, так же как и формирование ХГС (у 18 из 24, 75%, $p=0,064$). Связь между динамикой антителообразования и исходами ОГС в данном случае можно объяснить высокой частотой образования новых квазивидов вируса, реинфицированием и иммуносупрессией у больных с длительным “стажем” наркотизации (Blum Н.Е., 1995, Rodger А.Ј., 2000, Цурикова Н.Н., 2000).

При анализе клинической картины мы прежде всего сравнили динамику антителообразования при разной тяжести болезни. У большинства наблюдавшихся больных было установлено легкое течение (у 57 из 79), что отражает течение ОГС в целом. Результаты исследований не выявили различий в частоте выявления и длительности индикации антител при легкой и средне-тяжелой формах болезни. Динамика антител к белкам НСV при желтушной и безжелтушной формах ОГС была близкой.

При сопоставлении антительного ответа с активностью цитолиза, были выявлены определенные закономерности. В частности, при первичном обследовании положительные результаты индикации анти/НСVcoreIgM (у 46 из 79 больных, 58,2%) отмечены при высоком уровне АлАТ (более 7 норм, средние показатели $4,5+0,75$ ммоль/л.ч.). К 3 мес. болезни частота выявления антител этого класса снижалась параллельно показателям АлАТ. Это, вероятно, объясняется участием анти/НСVcoreIgM в процессе цитолиза (Ishii K. et al., 1997, Freeman A.J. et al., 2001). В эти сроки анти/НСVcoreIgM определялись уже у 34 из 79 больных (43%), а средние показатели АлАТ составили $1,58+0,78$ ммоль/л.ч. К 6 мес. было отмечено повторное повышение частоты индикации анти/НСVcoreIgM и уровня АлАТ (средние показатели $1,75+0,97$ ммоль/л.ч.) у 47 из 62 больных (75,8%) с последующим формированием ХГС. Динамика анти/НСVns3 и а/НСVns5 в эти же сроки была близкой. С другой стороны, частота индикации анти/НСVcoreIgG и анти/НСVns4 с увеличением длительности болезни нарастала, даже в периоды снижения уровня АлАТ.

Основной интерес представили результаты анализа взаимосвязи анти-телообразования и инфекционного процесса. Было выявлено соответствие динамики анти/НСVcoreIgM результатам индикации НCV РНК при ОГС, ее высокая корреляция с вирусной нагрузкой ($r=0,70$, $p^*=0,025$). На 1 мес болезни частота выявления анти/НСVcoreIgM и НCV РНК была максимальной - у 46 и 79 больных (58,2%) соответственно. Титр антител также был высоким ($>2,8$ УЕ.). К исходу 3 мес. у половины больных анти/НСVcoreIgM и НCV РНК исчезали (у 20 из 46 -43,5% и у 34 из 79 -43%), что, по-видимому, соответствовало адекватному иммунному ответу и возможности благоприятного исхода ОГС (Юшук Н.Д и др., 2000, Natira S A. et al , 2000) Титр анти/НСVcoreIgM также снижался и составлял 1,5-2,1 УЕ.. К 6 мес болезни антитела и НCV РНК появлялись вновь При сопоставлении с исходами ОГС было установлено, что повторное обнаружение анти/НСVcoreIgM является критерием угрозы хронизации. Развитие ХГС, в данном случае, отмечено у всех 47 больных. Частота индикации анти/НСVcoreIgG нарастала с увеличением сроков болезни независимо от динамики НCV РНК, отражая характеристику гуморального иммунного ответа (Roggendorf M., 1995, Афанасьев А.Ю., 1998). Таким образом, прогностического значения контроль за этими антителами не имеет. В работе Houghton M. et al (1996) показана роль неструктурных белков ns3 и ns5 как ферментов, участвующих в синтезе НCV РНК или вирусной частицы в целом. В наших исследованиях также была подтверждена связь между динамикой анти/НСVns3 и анти/НСVns5 и активностью репликации НCV. При первичном обследовании антитела определялись у 65 (82,3%) и 4 (5,1%) из 79 больных соответственно. С увеличением длительности болезни частота индикации этих антител нарастала, причем она была выше у больных с сохраняющимися положительными результатами НCV РНК и последующей хронизацией К 6 мес. у 54 из 70 (77,1%) анти/НСVns3-позитивных и у всех 36 анти/НСVns5-позитивных больных определялась НCV РНК, что соответствовало развитию ХГС. Анализ динамики анти/НСVns4 в сопоставлении с НCV РНК подтвердил значение этих

антител как фактора, отражающего прежде всего длительность инфекционного процесса. Однако, следует отметить, что при формировании ХГС анти/НСVns4 определялись с большей частотой в течение всего срока наблюдения.

Анализ полученных результатов позволил нам выделить критерии прогнозирования исхода острой фазы гепатита С по итогам 1, 3, 6 месяцев наблюдения. Эти сроки соответствуют принятым этапам стационарного и диспансерного наблюдения за больными острыми вирусными гепатитами.

Благоприятными прогностическими признаками можно считать сочетание женского пола ($r=0,50$, $p^*=0,043$), возраста младше 25 лет ($r=0,40$, $p^*=0,06$), медицинского пути заражения (однократные манипуляции, $r=0,55$, $p^*=0,078$) Из лабораторных признаков - отсутствие анти/НСVcoreIgM, анти/НСVns3 и анги/НСVns5, исчезновение НCV РНК в течение 1 мес. болезни ($r=0,70$, $p^*=0,014$). К исходу 3 мес. болезни критериями выздоровления можно считать снижение титра анги/НСVcoreIgM или их полное исчезновение, отсутствие анти/НСVns3, анти/НСVns5 и НCV РНК ($r=0,83$, $p^*=0,05$). На 6 мес. болезни прогнозировать выздоровление позволяет отсутствие анти/НСVcoreIgM, анти/НСVns3, анти/НСVns5 и НCV РНК, нормальные показатели АлАТ ($r=0,90$, $p^*=0,002$)

Прогностически неблагоприятными признаками могут быть сочетание мужского пола ($r=0,45$, $p^*=0,037$), возраста старше 35 лет ($r=0,50$, $p^*=0,13$), заражения в результате гемотрансфузии ($r=0,80$, $p^*=0,022$) или длительной наркотизации ($r=0,98$, $p^*=0,001$). Из лабораторных признаков - выявление анти/НСVns3 и/или анти/НСVns5 в течение 1 мес. болезни, а также НCV РНК ($r=0,53$, $p^*=0,22$). К исходу 3 мес. болезни формирование ХГС следует прогнозировать при выявлении анти/НСVcoreIgM, анти/НСVns5 и НCV РНК ($r=0,83$, $p^*=0,014$) На 6 мес. наблюдения прогнозировать хронизацию позволяют повторное обнаружение анти/НСVcoreIgM, а также выявление анти/НСVns3 и/или анти/НСVns5, сохранение повышенных показателей АлАТ ($r=0,75$, $p^*=0,002$). У всех этих больных в сыворотке крови определялась и НCV РНК.

Первым результатом анализа антителообразования при ХГС стало установление отсутствия связи анти/НСVcoreIgG и анти/НСVns4 с активностью инфекционного процесса. Они определялись у всех НCV РНК-позитивных и РНК-негативных больных. Это закономерно подтверждало данные, полученные в острую фазу. Анти/НСVns3 также определялись у всех больных ХГС. По результатам индикации анти/НСVcoreIgM было выявлено 60 анти/НСVcoreIgM-позитивных и 43 анти/НСVcoreIgM-негативных больных. Анти/НСVns5 определялись у 57 больных, а 46 были анти/НСVns5-негативными. Поэтому, задачей этого раздела работы стал анализ течения хронического гепатита С при разных результатах индикации анти/НСVcoreIgM и анти/НСVns5. Его основной целью было выявление связи этих антител с характеристикой больного, клинико-биохимической картиной, инфекционным процессом и морфологическими изменениями в печени при ХГС.

В группе анти/НСVcoreIgM-позитивных больных преобладали мужчины -- 42 из 60 (70%). Среди анти/НСVcoreIgM-негативных больных их было только 16 из 43 (37,2%, $p=0,002$). В то же время, результаты исследований Sheehan M. (1997) и Bianco E. (2003) свидетельствуют о более активном антите-лообразовании у женщин. Это "несоответствие" получило объяснение при более детальном анализе, в частности, оценке наркотизации, как фактора, влияющего на иммунный ответ. Была установлена преимущественная и длительная (свыше 6 месяцев) наркотизация анти/НСVcoreIgM-позитивных больных как до, так и в течение болезни (36 из 60, 60%). В группе анти/НСVcoreIgM-негативных больных преобладали медицинский путь заражения (у 24 из 43 -- 55,8%, $p<0,0001$), а также отсутствие внутривенного употребления наркотиков в период болезни. Большинство больных с положительными результатами индикации анти/НСVcoreIgM были старше 25 лет (49 из 60, 81,6%). Это соответствовало, как правило, большей длительности болезни.

Сопутствующая патология (панкреатит, холецистит) чаще выявлялись у анти/НСVcoreIgM-позитивных больных. С учетом большей продолжительности ХГС, эти результаты можно было расценить как проявле-

ния внепеченочной репликации (Lohr H.F. et al., 1995, Zignego A.L. et al., 1995, Gowans E.J., 2000).

Оценка клинической картины болезни позволила установить у большинства больных с положительными результатами индикации анти/НСVcoreIgM манифестные формы (у 49 из 60, 81,7%) с преобладанием диспептического синдрома (у 27 из 49, 55,1%). Гепатоспленомегалия и внепеченочные знаки также чаще выявлялись у анти/НСVcoreIgM-положительных больных. Показатели пигментного обмена, мезенхимально-воспалительного синдрома достигали у них наибольших значений. Анализ уровня АлАТ при разных результатах индикации анти/НСVcoreIgM подтвердил данные Martinelli A. et al (1996) о высокой корреляции между наличием антител этого класса и повышенным уровнем АлАТ. У анти/НСVcoreIgM-негативных больных чаще регистрировался низкий уровень АлАТ, менее 3 норм (у 32 из 43, 74,4%). Средние показатели были также достоверно ниже – $1,68 \pm 0,15$ ммоль/л.ч. В то же время, у большинства анти/НСVcoreIgM-положительных больных был выявлен высокий цитолиз, более 3 норм (у 47 из 60 – 78,3%, $p < 0,0001$). Средние показатели АлАТ у них составили $3,2 \pm 0,14$ ммоль/л.ч.

Наибольший интерес представили результаты анализа инфекционного процесса. Прежде всего отметим, что полного соответствия частоты индикации НCV РНК и анти/НСVcoreIgM у больных ХГС не было. НCV РНК определялась у 32 из 60 (53,3%) анти/НСVcoreIgM-положительных больных и у 15 из 43 (34,9%) анти/НСVcoreIgM-негативных больных ($p = 0,098$). Однако, уровень виремии был выше у больных с положительными результатами индикации анти/НСVcoreIgM (>105 копий/мл, у 23 из 32 – 71,9%). У анти/НСVcoreIgM-негативных больных регистрировалось преимущественно низкое содержание НCV РНК (<103 копий/мл, у 11 из 15 – 73,3%, $p < 0,0001$). Высокой вирусной нагрузке соответствовали и высокие титры антител ($>2,8$ У.Е., $p = 0,001$). При отсутствии НCV РНК титр анти/НСVcoreIgM был низким ($<1,5$ У.Е., $p < 0,0001$). Таким образом, связь между анти/НСVcoreIgM и НCV РНК присутствует и при ХГС, а количественная оценка уровня антител позволяет с большей точ-

ностью судить об активности инфекционного процесса.

Для определения взаимосвязи анти/НСVcoreIgM и морфологических изменений в печени, а также для подтверждения полученных результатов, мы провели пункционную биопсию печени 20 больным с положительными результатами индикации анти/НСVcoreIgM и 12 анти/НСVcoreIgM-негативным больным. Следует отметить, что несмотря на сходство общей морфологической картины, только у анти/НСVcoreIgM-положительных больных ИГА был высоким (>9 баллов, у 6 из 20). Кроме того, у них выявлены более выраженные некротические и фибротические изменения. Это были мужчины ($r=0,50$, $p^*=0,048$), старше 25 лет ($r=0,30$, $p^*=0,021$), употребляющие психоактивные вещества ($r=0,72$, $p^*=0,03$), с длительностью болезни свыше 5 лет ($r=0,60$, $p^*=0,113$). У всех у них отмечены высокие (свыше 105 копий/мл) титры НCV РНК.

Аналогичным образом мы сравнили течение ХГС при разных результатах индикации анти/НСVns5. Большинство анти/НСVns5-положительных больных были мужчины (45 из 57, 78,9%), тогда как среди больных с отрицательными результатами индикации анти/НСVns5 их было около 1/3 (13 из 46, 28,3%, $p<0,0001$). Это соответствовало отмеченному нами ранее более частому и длительному сохранению анти/НСVns5 у мужчин в острую фазу болезни. Кроме того, именно у 34 из 57 анти/НСVns5-положительных больных-мужчин заражение было связано с длительным (свыше 6 мес.) употреблением наркотиков, около половины из них продолжали наркотизацию и в течение болезни. Среди анти/НСVns5-негативных больных преобладал медицинский путь заражения (у 27 из 46, 58,7%, $p<0,0001$). То есть, при ХГС, как и при ОГС, имеется связь между частотой выявления анти/НСVns5, инфицирующей дозой и кратностью инфицирования. Больные с положительными результатами индикации анти/НСVns5 чаще были старше 25 лет (47 из 57, 82,5%), с более длительным сроком болезни (свыше 5 лет). У них чаще выявлялась сопутствующая патология панкреато-дуоденальной зоны.

При оценке клинических проявлений ХГС были выявлены преимущественно манифестные формы у больных с положительными резуль-

татами индикации анти/НСVns5 (у 52 из 57, 91,2%). Преобладающим синдромом был диспептический – встречался у 29 из 52 а/НСVns5-позитивных больных (55,8%). У анти/НСVns5-негативных больных клинически манифестные формы определялись достоверно реже (у 20 из 46, 43,5%, $p < 0,0001$), преобладал астено-вегетативный синдром (у 9 из 20, 45%). Гепатоспленомегалия и внепеченочные знаки, как результат полисистемных проявлений активности инфекционного процесса, также достоверно чаще присутствовали у анти/НСVns5-позитивных больных (у 25 из 57 – 43,9% и у 32 из 57 – 56,1%). Лабораторным подтверждением наличия полисистемных проявлений у них было повышение показателей ЦИК в 2-3 раза почти у 1/3 (у 20 из 57 – 35,1%) и лишь у 2 из 46 анти/НСVns5-негативных больных (4,3%, $p < 0,0001$).

Признаки нарушения белкового обмена в виде диспротеинемии выявлялись у половины больных вне зависимости от результатов индикации анти/НСVns5, однако, большей частоты и выраженности достигали у анти/НСVns5-позитивных больных ($p < 0,0001$).

С учетом данных Neomov N.Y. (1999), Николаевой Л.И. (2003) о том, что антитела к неструктурным белкам появляются при разрушении инфицированных гепатоцитов, представляла интерес активность цитолитического синдрома при разных результатах индикации анти/НСVns5. Было установлено, что высокий уровень АлАТ (более 3 норм, в среднем, $3,4 \pm 0,6$ ммоль/л.ч.) чаще регистрировался у анти/НСVns5-позитивных больных. В группе анти/НСVns5-негативных больных выраженный цитолитиз встречался достоверно реже. У них отмечено преобладание низких показателей АлАТ (менее 3 норм, в среднем, $1,35 \pm 0,65$ ммоль/л.ч., $p < 0,0001$). Таким образом, полученные результаты позволяют согласиться с данными И В Круглова и др. (2002) о высокой корреляции между частотой индикации анти/НСVns5 и уровнем АлАТ.

При сравнении репликативной активности НСV оказалось, что РНК чаще выявлялась у больных с положительными результатами индикации анти/НСVns5 (у 38 из 57 – 66,7%), и реже у анти/НСVns5-негативных (у 9 из 46 – 19,6%, $p < 0,0001$). Кроме того, если в группе анти/НСVns5-по-

зитивных больных преобладал высокий (>105 копий/мл) или средний (104 копий/мл) уровень вирусемии, то у подавляющего числа больных с отрицательными результатами индикации антител он был низким (<103 копий/мл). То есть, обнаружение анти/НСVns5 у больных ХГС с большой вероятностью предполагает наличие НСV РНК в сыворотке крови и соответствует высокой вирусной нагрузке.

Пункционная биопсия печени была проведена 18 анти/НСVns5-позитивным и 14 анти/НСVns5-негативным больным. Следует отметить присутствие высокой гистологической активности только в группе больных с положительными результатами индикации анти/НСVns5 (у 6 из 18, $p=0,024$). Средние показатели ИГА у них также были достоверно выше, как частота и выраженность некроза. Чаше это были мужчины старше 25 лет ($r=0,45$, $p^*=0,05$), употребляющие наркотики ($r=0,70$, $p^*=0,031$) и давностью болезни свыше 5 лет ($r=0,50$, $p^*=0,114$). У всех этих больных выявлялись высокие титры НСV РНК ($r=0,75$, $p^*=0,021$).

Таким образом, обнаружение анти/НСVcoreIgM и анти/НСVns5 может предполагать высокую активность инфекционного процесса, соответствующую клинико-биохимической и морфологической картине болезни. Результаты индикации этих антител могут быть использованы для характеристики течения ХГС и решения вопроса о необходимости ПВТ при отсутствии возможности определения НСV РНК.

С учетом полученных результатов, мы считали важным оценить значение контроля за антительным спектром для прогнозирования эффективности ПВТ. Для этого, прежде всего мы сопоставили результаты динамики антител к структурному и неструктурным белкам НСV с изменениями общепринятого стандарта – НСV РНК. Перед началом ПВТ НСV РНК определялась у всех больных (41), получавших лечение α -интерфероном и рибавирином. К 4 неделе лечения у больных с последующим УВО она исчезала (у 16 из 33, 48,5%) или наблюдалось снижение концентрации НСV РНК на 2 логарифма. Ни у одного из больных с рецидивом подобного отмечено не было. К 12 неделе НСV РНК сохранялась лишь у 2 из 33 больных (6,1%) с УВО, причем ее титр снизился более,

чем на 2 логарифма. В группе больных с рецидивом в эти сроки HCV РНК исчезла только у 2 из 8 (25%), у остальных вирусемия сохранялась на прежнем уровне. Повторное обнаружение HCV РНК в этой группе больных в течение 6 месяцев после окончания лечения соответствовало рецидиву. Таким образом, критерием раннего вирусологического ответа можно считать исчезновение или снижение концентрации HCV РНК на 4-12 неделях ПВТ. Аналогичные данные приводят Лопаткина Т.Н. (1999), Buti M. et al. (2000), Diago et al. (2001).

Мы изучили прогностическое значение динамики АлАТ как наиболее доступного критерия контроля у больных с УВО и рецидивом. Перед началом лечения уровень АлАТ в обеих группах составлял более 3-5 норм, достоверных различий в средних значениях выявлено не было. К исходу 4 недели лечения только у больных с УВО наблюдалась нормализация показателей АлАТ (у 17 из 33, 51,5%, $p=0,024$). Однако, к 12 неделе, уже независимо от результата ПВТ, значения АлАТ не превышали норму у всех больных. То есть, контроль за показателями АлАТ сам по себе не может быть использован как критерий прогнозирования эффективности лечения.

С учетом выявленной ранее корреляции между HCV РНК и антителами к белкам HCV, мы оценили их динамику в процессе ПВТ. Прежде всего отметим, что у всех 9 больных с исходными отрицательными результатами индикации анти/HCVcoreIgM был достигнут УВО. Т.о., этот признак может рассматриваться как наиболее ранний предиктор эффективности ПВТ. Перед началом лечения анти/HCVcoreIgM определялись у 24 из 33 больных (72,7%) с УВО и у всех 8 больных с рецидивом в высоком титре ($>2,8$ У.Е.). В процессе лечения исчезновение анти/HCVcoreIgM или снижение их титра наблюдалось у больных обеих групп, но в разные сроки. Так, у больных с УВО антитела этого класса исчезали к концу 4 (у 5) и 12 (у 10) недель лечения. После окончания ПВТ анти/HCVcoreIgM перестали определяться еще у 2 больных. Исследование титра антител этого класса позволило выявить его снижение на 4 неделе лечения у больных с УВО до 2,0-2,6 У.Е. и на 12 неделе – менее 2,0 У.Е..

В группе больных с рецидивом анти/НСVcoreIgM к 12 неделе исчезли только у 2 из 8 (25%). У остальных в эти сроки отмечено лишь незначительное снижение титра анти/НСVcoreIgM, не ниже 2,2 УЕ.. Важно подчеркнуть повторное появление анти/НСVcoreIgM у всех больных с рецидивом к исходу 6 месяцев после окончания ПВТ. Таким образом, исчезновение анти/НСVcoreIgM или значительное снижение их титра позволяет прогнозировать УВО практически в те же сроки, что и контроль за НCV РНК.

Исчезновение антител к неструктурным белкам НCV наблюдалось в более поздние сроки. Перед началом лечения анти/НСVns3 и анти/НСVns4 определялись с близкой частотой у больных с УВО и рецидивом (у 27 из 33 –81,8% и у всех 8). Следует отметить благоприятное прогностическое значение отсутствия и анти/НСVns3 до начала терапии как предиктора УВО. При положительном результате лечения анти/НСVns3 исчезали к 24 неделе от начала терапии (у 4 из 27, 14,8%), а анти/НСVns4 – позже (у 2 из 27, 7,4%). Спустя 6 месяцев после окончания ПВТ анти/НСVns4 перестали определяться еще у 5 из 27 больных (18,5%). При развитии рецидива частота индикации антител этих групп была постоянной как в процессе лечения, так и в течение всего срока последующего наблюдения. Таким образом, исчезновение анти/НСVns3 и анти/НСVns4 может рассматриваться как критерий УВО. Однако их динамика не имеет большого прогностического значения, поскольку изменения в частоте индикации выявлялись у небольшого числа больных. Следует отметить благоприятное прогностическое значение отсутствия анти/НСVns5 перед началом ПВТ (у 14 больных, 34,1%), а также их исчезновение к 24 неделе лечения (у 9 -33,3%). У всех таких больных получен УВО. Спустя 3-6 мес. после окончания лечения анти/НСVns5 исчезли еще у 3 больных. У больных с рецидивом антитела этой группы не исчезали в процессе лечения, либо регистрировалось их повторное появление ($p=0,001$). Следует, по-видимому, согласиться с данными Egomoto N. et al. (1995, 1996) и Chayama

K. et al. (1997) о возможности белка NS5 блокировать клеточную про-

теинкиназу, индуцированную интерфероном, способствуя тем самым резистентности к противовирусной терапии.

Были выделены дополнительные факторы, влияющие на эффективность ПВТ. Оказалось, что с УВО ассоциируется женский пол ($r=0,45$, $p^*=0,05$), возраст младше 35 лет ($r=0,50$, $p^*=0,03$), длительность болезни менее 5 лет ($r=0,50$, $p^*=0,126$), выбор оптимального курса лечения при 1 генотипе вируса – 48 недель ($r=0,60$, $p^*=0,01$). Угроза рецидива была выше у мужчин старше 35 лет ($r=0,45$, $p^*=0,01$), при неполном курсе проводимой терапии – 24 недели вместо 48 при 1 генотипе ($r=0,63$, $p^*=0,023$), несоблюдении приема рибавирин ($r=0,25$, $p^*=0,362$), генотипе вируса 1b (у 6 из 8 больных). Нельзя не учитывать возможность реинфицирования у больных в процессе профессиональной деятельности или продолжающих употреблять наркотики на фоне проводимой терапии. Кроме того, важное значение у них имеет большая продолжительность болезни к моменту начала лечения.

ВЫВОДЫ

1. При остром гепатите С установлена прямая связь анти/НСVcoreIgM, анти/НСVns3 и анти/НСVns5 с активностью репликации НCV, инфицирующей дозой и кратностью парентеральных манипуляций, приведших к заражению. Ранее (в течение первого месяца) появление анти/НСVcoreIgM у женщин моложе 25 лет, с единичными парентеральными вмешательствами может определять благоприятный исход острой фазы.
2. Благоприятным прогностическим признаком выздоровления при ОГС является отсутствие анти/НСVns5 в сочетании с исчезновением анти/НСVcoreIgM в течение первых 3 месяцев болезни и анти/НСVns3 – в течение 6 месяцев.
3. При хроническом гепатите С анти/НСVcoreIgM и анти/НСVns5 отражают количественные изменения НCV РНК и могут быть использованы для оценки репликативной активности НCV.
4. У мужчин старше 25 лет, употребляющих наркотики, с длительностью болезни свыше 5 лет, с наличием панкреатита, холецистита или жирового гепатоза можно ожидать более высокую активность хронического

гепатита С.

5. Анти/НСVcoreIgM отражают динамику НCV РНК в процессе противовирусной терапии больных хроническим гепатитом С. Вне зависимости от генотипа, вирусологический ответ следует прогнозировать при отсутствии анти/НСVcoreIgM и/или анти/НСVns3, анти/НСVns5 к началу лечения, а также при снижении титра или исчезновении анти/НСVcoreIgM в течение первых 3 месяцев у женщин моложе 25 лет, с длительностью болезни менее 5 лет, оптимальным курсом лечения (48 недель при 1 генотипе).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Появление анти/НСVns3 и анти/НСVns5 в течение первого месяца острого гепатита С, анти/НСVcoreIgM – после 3 месяца, в первую очередь у мужчин старше 35 лет, длительно (свыше 6 мес.) употребляющих наркотики или имевших гемотрансфузии, следует рассматривать как прогностический критерий хронизации и требует назначения противовирусной терапии в острую фазу.
2. Сочетание анти/НСVcoreIgM в титре > 2,8 У.Е. с анти/НСVns5 у мужчин старше 25 лет, длительностью хронического гепатита С свыше 5 лет, на фоне панкреатита, холецистита или жирового гепатоза может характеризовать высокую степень активности хронического гепатита, и при невозможности определения НCV РНК является основанием для назначения противовирусной терапии.
3. Для дополнительной оценки эффективности противовирусной терапии следует определять перед лечением анти/НСVcoreIgM, анти/НСVns3 и анти/НСVns5; через 1 месяц – наличие анти/НСVcoreIgM (с титрованием сыворотки), через 3 месяца от начала лечения – наличие анти/НСVcoreIgM, анти/НСVns3 и анти/НСVns5.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Михайлова, Е.А. Влияние факторов эпиданамнеза при остром гепа-

тите С на течение и исходы заболевания / Е.А. Михайлова, А.Б. Бузина // Проблема инфекции в клинической медицине: Материалы научной конференции и VIII съезда Итало-Российского общества по инфекционным болезням, Санкт-Петербург, 5-6 декабря 2002 г. – СПб., 2002. - С. 213-214.

2.Бузина, А.Б. Анализ сроков появления антител к структурным и неструктурным белкам ВГС в зависимости от тяжести болезни / А.Б. Бузина, О.В. Корочкина, Е.А. Михайлова // Проблема инфекции в клинической медицине: Материалы научной конференции и VIII съезда Итало-Российского общества по инфекционным болезням, Санкт-Петербург, 5-6 декабря 2002 года, СПб., 2002. - С. 57.

3 Бузина, А.Б. Диагностическое и прогностическое значение антител к разным антигенам HCV при остром гепатите С / А.Б. Бузина, О.В. Корочкина, Е.А. Михайлова // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2003. - №6. - С. 19-21.

4.Бузина, А.Б. Изменение серологического профиля у пациентов с HCV – инфекцией на фоне противовирусной терапии / А.Б. Бузина, Е.А. Михайлова // Материалы VI Российского съезда врачей – инфекционистов, Санкт-Петербург, 29-31 октября 2003 г. - СПб., 2003. - С. 55.

5.Михайлова, Е.А. Характеристика маркерного спектра при хроническом гепатите С при разных показателях АлАТ / Е.А. Михайлова, А.Б. Бузина // Материалы VI Российского съезда врачей – инфекционистов, Санкт-Петербург, 29-31 октября 2003 г. – СПб., 2003. - С. 253-254.

6.Корочкина, О.В. Использование комбинированной противовирусной терапии (Интрон-А + ребетол) у больного с HCV-циррозом печени / О.В. Корочкина, А.Б. Бузина // Вирусные гепатиты: достижения и перспективы. – 2003. - №3. - С. 17.

7.Михайлова, Е.А. Сравнительная характеристика гистологических изменений печени у больных хроническим гепатитом С при разных показателях АлАТ / Е.А. Михайлова, А.Б. Бузина // Девятая Российская конференция «Гепатология сегодня», Москва, 22-24 марта 2004. – М., 2004. - С. 18

№ - 2784

РНБ Русский фонд

2006-4

11761

Подписано в печать 10.02.2005 г.
Формат 60x94 1/16 Объем 1,0 п л
Тираж 100 экз

Отпечатано в частной типографии «Перспектива»
603140, г Н Новгород, пр Ленина, 16б
тел 13-78-13, тел./ф 45-10-47