

фоцитах крови человека после облучения в высокой дозе // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2001. — Т. 41. — № 1. — С. 43–48.

2. Бочков Н.П. Хромосомы человека и облучение. — М.: Наука, 1971. — 168 с.

3. Бурлакова Е.Б., Додина Г.П., Зюзиков Н.А. и др. Действие малых доз ионизирующего излучения и химических загрязнений на человека и биоту. Программа «оценка сочетанного действия радионуклидов и химических загрязнений» // Атомная энергия. — 1998. — Т. 85. — Вып. 6. — С. 457–462.

4. Калистратова В.С. Метаболизм и биологическое действие радионуклидов при оральном поступлении. — М.: Атомиздат, 1979. — С. 219–227.

5. Маленченко А.Ф., Панитков Ю.С. Биологические проблемы радиационного риска // Весці АН БССР. Сер. фіз.-энэрг. навук. — 1991. — № 3. — С. 15–26.

6. Маленченко А.Ф., Сушко С.Н., Кузьмина Т.С. Зависимости доза-эффект и время-эффект в процес-

се опухолеобразования при сочетанном воздействии ионизирующего излучения и химического канцерогена // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2001. — Т. 41. — № 4. — С. 389–394.

7. Методика учета хромосомных aberrаций, как биологический индикатор влияния факторов внешней среды на человека: Методические рекомендации. — М.: Ин-т мед. генетики АМН СССР, 1974. — 20 с.

8. Мюнтинг А. Генетика. — М.: Мир, 1967. — 610 с.

9. Определение мутагенной активности химических соединений с использованием лабораторных мышей. Метод рекомендации. — М.: АМН СССР, 1986. — 22 с.

10. Gulati D.K., Kaur P. Comparison of single-, double- or triple-exposure protocols for the rodent bone marrow/peripheral blood micronucleus assay using 4-aminobiphenyl and treosulphan // Mutation Res. — 1990. — Vol. 234. — P. 135–139.

Поступила 08.06.2005

## КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616.36-002-036.12+616-097]:615.37

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИТЕЛ К NS5 БЕЛКУ ВИРУСА ГЕПАТИТА С (HCV) И АНТИТЕЛ К HCV КЛАССА IgM ДЛЯ ПРОГНОЗА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНТЕРФЕРОНОТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С

В.М. Мицура, С.В. Жаворонок, Е.Л. Красавцев, А.П. Демчило, Аль-Ханса Аль-Шаби, И.Л. Павлович

Гомельский государственный медицинский университет  
Гомельская областная клиническая инфекционная больница

Методом иммуноферментного анализа исследованы сыворотки крови 176 больных хроническим гепатитом С (ХГС) для определения антител к NS5-белку вируса гепатита С (HCV) и анти-HCV IgM как возможных предикторов ответа на интерферонотерапию ХГС. Антитела к NS5 выявлены у 63,1%, анти-HCV IgM — у 48,6% больных. При обнаружении анти-NS5 и анти-HCV IgM чаще выявлялся повышенный уровень АЛТ ( $p < 0,05$ ). Вирусологический ответ на курс интерферонотерапии значимо чаще ассоциировался с отсутствием анти-NS5 (62,5%,  $p = 0,038$ ) и анти-HCV IgM (75,0%,  $p = 0,040$ ). Антитела к NS5 и анти-HCV IgM могут использоваться и в качестве прогностических факторов эффективности интерферонотерапии. Изучение анти-HCV IgM в динамике интерферонотерапии позволяет оценивать эффективность лечения.

**Ключевые слова:** хронический гепатит С, антитела к NS5 белку HCV, антитела к HCV класса IgM, интерферонотерапия, прогноз эффективности.

### DETECTION OF ANTIBODIES TO HEPATITIS C VIRUS (HCV) NS5 PROTEIN AND ANTIBODIES TO HCV IgM FOR PREDICTION OF INTERFERON THERAPY EFFICACY IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C

V.M. Mitsura, S.V. Zhavoronok, E.L. Krasavtsev, A.P. Demtchilo, Al-Shabi Al-Khansa, I.L. Pavlovich

Gomel State Medical University  
Gomel Regional Clinical Infectious Hospital

We studied sera samples from 176 of chronic hepatitis C (CHC) patients with the use of ELISA method to detect antibodies to hepatitis C virus (HCV) NS5 protein (anti-NS5) and antibodies to HCV IgM (anti-HCV IgM) as possible predictors of response to interferon therapy.

Anti-NS5 were revealed in 63,1% of patients, anti-HCV IgM — in 48,6%, their revealing correlated with increased ALT levels ( $p < 0,05$ ). Virologic response to interferon therapy course was revealed significantly more frequently in those without anti-NS5 (62,5%,  $p = 0,038$ ) and anti-HCV IgM (75,0%,  $p = 0,040$ ). Both anti-NS5 and anti-HCV IgM showed predictive value of response to interferon therapy of CHC. The study of anti-HCV IgM during the interferon therapy can be useful for evaluation of treatment efficacy.

**Key words:** chronic hepatitis C, antibodies to hepatitis C virus (HCV) NS5 protein, antibodies to HCV IgM, interferon therapy, efficacy prediction.

### **Введение**

Хронический гепатит С (ХГС) представляет собой одну из важнейших проблем современного здравоохранения в связи с частотой распространения, неуклонным ростом заболеваемости, высоким риском трансформации в цирроз печени и развития гепатоцеллюлярной карциномы [1, 6, 7]. Примерно 1% населения Республики Беларусь инфицированы вирусом гепатита С (HCV), что составляет около 100 000 человек, из которых около 10% имеют манифестные формы инфекции [1].

Как известно, геном HCV кодирует структурные (С, Е1, Е2) и неструктурные (NS2, NS3, NS4, NS5) белки. К каждому из этих белков вырабатываются антитела, циркулирующие в крови [2]. Однако специфический гуморальный иммунный ответ при HCV-инфекции не является протективным [1, 5]. В крови больных хроническим гепатитом С (ХГС) закономерно обнаруживаются антитела к core-белку и неструктурным протеинам, чаще всего при ХГС выявляются антитела к NS4 (анти-NS4) [2, 4, 5]. Исчезновение антител к core белку, NS4 и NS5 в динамике может являться признаком, указывающим на формирование клинко-биохимической ремиссии [8]. Предполагается, что титры антител к NS5 могут отражать эффективность терапии препаратами  $\alpha$ -интерферона ( $\alpha$ -ИФН), причем их повышенные титры характерны для лиц, не отвечающих на терапию  $\alpha$ -ИФН [10].

Антитела к HCV класса IgM (анти-HCV IgM) свидетельствуют об активной репликации вируса, отражая уровень виремии и активности ХГС [2, 5, 9, 13]. Известно, что антитела к неструктурным белкам HCV и анти-HCV IgM обнаруживаются гораздо реже у больных ХГС в стадии ремиссии, чем при повышенной активности ХГС [2, 6, 8, 13].

Мононуклеарные клетки крови, выделенные от больных ХГС, способны продуцировать антитела к HCV классов IgM и IgG, как показано в исследовании *in vitro*. При этом показана прямая связь между продукцией антител и активностью ХГС (биохимической и гистологической) [14, 15]. Также показано влияние продукции антител (в том числе IgM) на эффективность интерферонотерапии: у 7 из 8 «неответчиков» антитела продуцировались, тогда как у 8 из 10, ответивших на терапию, антитела не вырабатывались [14]. Была выявлена зависимость ответа на интерферонотерапию от уровня антител класса IgM (у ответивших на терапию титры антител до лечения и в его процессе были ниже) [13].

В настоящее время основным способом этиотропного лечения ХГС с доказанной эффективностью является применение препаратов альфа-интерферона ( $\alpha$ -ИФН) [1, 5, 6, 7, 12]. Препараты  $\alpha$ -ИФН обладают противовирусной и, в меньшей степени, иммуномодулирующей способностью [5, 6]. К сожалению, стабильные положительные результаты интерферонотерапии удается достичь лишь у 25% больных ХГС. Применение комбинированной терапии с рибавирином повышает эффективность лечения до 30–40% [6, 11, 12], при этом возрастает число побочных эффектов терапии и увеличивается его стоимость. Для выбора стратегии и анализа эффективности терапии ХГС необходимо исследовать иммунный статус организма перед назначением ИФН и в процессе терапии [3, 11]. Показано, что частота вирусологического ответа на ИФН выше у пациентов с нормальным исходным состоянием системы иммунитета [3].

Важно прогнозировать возможный ответ на интерферонотерапию до начала лечения, чтобы подобрать адекватную схему терапии и снизить финансовые затраты на лечение. В качестве предикторов ответа на терапию

предлагаются: пол, возраст, продолжительность заболевания, уровни аланинаминотрансферазы (АЛТ), морфологические критерии, наличие отягощающих факторов (инфекция HBV и ВИЧ, злоупотребление алкоголем). Наличие высокого исходного уровня вирусемии и 1 (особенно 1b) генотипа HCV являются неблагоприятным прогностическим признаком ответа на интерферонотерапию [1, 6, 7].

**Цель исследования:** выявить различия в частоте обнаружения антител к NS5-белку HCV и анти-HCV IgM в зависимости от пола, возраста больных, уровней АЛТ и получаемой терапии, а также определить их значение для прогноза эффективности интерферонотерапии ХГС.

#### **Материалы и методы**

Нами обследовано 176 больных ХГС, находившихся на стационарном лечении в Гомельской областной клинической инфекционной больнице. Диагноз у всех больных был подтвержден обнаружением антител к HCV (анти-HCV), РНК HCV методом полимеразной цепной реакции у 94, а также морфологическим изучением биоптатов печени у 58 больных. Сыворотки крови этих больных исследовались методом ИФА на определение антител к NS5

антигену HCV (анти-NS5) и антител к HCV класса IgM (анти-HCV IgM) у 142 больных. Проводилась качественная оценка результатов иммуноферментного анализа в соответствии с инструкциями по применению данных тест-систем. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программы STATISTICA v.5.0, были применены метод вариационной статистики Фишера - Стьюдента, критерий  $\chi^2$ , непараметрический критерий Манна-Уитни.

#### **Результаты и обсуждение**

Анти-NS5 выявлялись у 111 из 176 больных (63,1±3,6%). Анти-HCV IgM выявлялись у 69 из 142 больных (48,6±4,2%).

Проведено сравнение частоты выявления анти-NS5 и анти-HCV IgM в зависимости от пола, возраста больных, уровней АЛТ, а также частоты выявления повышенного уровня АЛТ (более 0,20 мккат/л, что соответствует повышению в 1,5 раза от нормы) (табл. 1). Для оценки различий применялся t-критерий Стьюдента (возраст и процент повышенной АЛТ) и критерий  $\chi^2$  (пол), а также критерий Манна-Уитни для сравнения уровней АЛТ, учитывая их непараметрическое распределение (по критерию Колмогорова-Смирнова  $p < 0,01$ ).

**Таблица 1**

**Пол, возраст, уровень и частота повышения АЛТ у больных с наличием (+) и отсутствием (-) анти-NS5 и анти-HCV IgM**

Параметры	Анти-NS5			Анти-HCV IgM		
	+(n = 111)	-(n = 65)	p	+(n = 69)	-(n = 73)	p
Пол: м/ж (абс.)	74/37	36/29	0,14	43/26	49/24	0,55
Возраст, лет, M±m	35,2±1,3	33,7±1,8	0,25	34,9±1,6	32,5±1,6	0,14
АЛТ, мккат/л, M±m	0,57±0,08	0,49±0,08	0,09	0,61±0,08	0,48±0,13	0,001
% повышенной АЛТ	79,6±3,8	62,5±6,0	0,047	79,7±4,8	59,7±5,7	0,011

Как видно из таблицы 1, значимые различия в частоте выявления анти-NS5 и анти-HCV IgM в зависимости от пола и возраста отсутствовали ( $p > 0,05$ ). Повышенные уровни АЛТ чаще были у лиц с наличием анти-NS5, чем при их отсутствии ( $p = 0,047$ ). Уровни АЛТ также были выше у лиц с наличием анти-HCV IgM, чем при их отсутствии ( $p = 0,001$ ). Анти-NS5 и анти-HCV IgM могут рассматриваться как дополнительные маркеры активности процесса при ХГС.

Для изучения влияния интерферонотерапии на антителообразование проведено сравнение частоты выявления специфиче-

ских антител у больных, получающих патогенетическую терапию (I группа, 118 больных), и после 3–6 месяцев интерферонотерапии (II группа, 58 больных). Сравнение частоты выявления анти-NS5 и анти-HCV IgM у больных I и II групп проводилось с помощью t-критерия Стьюдента (табл. 2).

Значимо реже ( $p < 0,05$ ) анти-NS5 и анти-HCV IgM регистрировались во II группе. По нашему мнению, этиотропная терапия препаратами  $\alpha$ -ИФН подавляет вирусную репликацию, что приводит к снижению образования специфических антител. Антитела к NS5 и антитела к HCV класса

IgM могут считаться дополнительными маркерами вирусной репликации и актив-

ности процесса, в том числе при этиотропной терапии ХГС.

Таблица 2

### Сравнение частоты выявления анти-NS5 и анти-HCV IgM у больных I и II групп

Группы больных	Анти-NS5, % (N)	Анти-HCV IgM, % (N)
I группа	68,6±4,3 (118)	57,0±5,3 (86)
II группа	51,7±6,6 (58)	35,7±6,4 (56)
p	0,028	0,013

Для выявления возможной связи между обнаружением специфических антител и исходом интерферонотерапии ретроспективно проанализирована частота выявления анти-NS5 и анти-HCV IgM до начала интерферонотерапии в зависимости от вирусологического ответа (отрицательный результат РНК HCV методом ПЦР) к завершению курса лечения у больных II группы. При этом из 48 больных вирусологический ответ (ВО) на

терапию зарегистрирован у 16 (33,3%), а отсутствие вирусологического ответа (вирусологический неответ, ВН) — у 32 (66,7%). Антитела к NS5-белку HCV выявлялись у 28 из 48 больных (58,3%), анти-HCV IgM — у 22 из 48 больных (45,8%). Оценка значимости различия частот наблюдений в четырехпольных таблицах проводилась с помощью  $\chi^2$ -критерия Пирсона. Результаты исследования представлены в таблице 3.

Таблица 3

### Выявление анти- NS5 и анти-HCV IgM в зависимости от вирусологического ответа на интерферонотерапию у больных ХГС

Вирусологический ответ	Анти-NS5 +	Анти-NS5 –	Анти-HCV IgM +	Анти-HCV IgM –
Ответ (n = 16)	6 (37,5%)	10 (62,5%)	4 (25,0%)	12 (75,0%)
Неответ (n = 32)	22 (68,7%)	10 (31,3%)	18 (56,3%)	14 (43,7%)
$\chi^2$ , p	$\chi^2 = 4,29$ ; p = 0,038		$\chi^2 = 4,20$ ; p = 0,040	

Как видно из приведенных в таблице данных, вирусологический ответ на интерферонотерапию значимо чаще (p < 0,05) ассоциировался с отсутствием анти-NS5 (62,5%) и анти-HCV IgM (75,0%), в то же время у не ответивших чаще выявлялись анти-NS5 (68,7%) и анти-HCV IgM (56,3%). Нами подтверждается мнение, что наличие и титры антител к NS5 белку HCV могут отражать эффективность терапии  $\alpha$ -ИФН, причем их повышенные значения характерны для лиц, не отвечающих на терапию  $\alpha$ -ИФН [10, 13].

У 18 больных II группы определение антител к HCV проводилось в динамике: до назначения интерферонотерапии и на ее фоне (через 3–9 месяцев). Антитела к NS5-белку выявлялись у 11 больных до начала терапии и сохранялись у тех же больных на фоне лечения. Анти-HCV IgM выявлялись у 8 из 18 больных перед курсом ин-

терферонотерапии. При этом у 6 человек анти-HCV IgM продолжали выявляться и в динамике терапии, а у 2 — антитела в динамике не выявлены (у обоих пациентов был достигнут вирусологический ответ к окончанию 12-месячного курса терапии). Из 10 пациентов, не имевших изначально анти-HCV IgM, у 5 в динамике они также не были выявлены, а у 5 — антитела стали позитивными (у 3 вирусологический ответ не был достигнут, у 2 был вирусологический ответ к окончанию 12 месячного курса терапии, однако у 1 из них вскоре после завершения курса терапии развился рецидив).

#### Заключение

Таким образом, антитела к NS5 выявлены у 63,1%, антитела анти-HCV IgM — у 48,6% больных. При обнаружении анти-NS5 и анти-HCV IgM чаще выявлялся повышенный уровень АЛТ (p < 0,05). Значимые различия в частоте выявления анти-

NS5 и анти-HCV IgM в зависимости от пола и возраста отсутствовали ( $p > 0,05$ ). Анти-NS5 и анти-HCV IgM регистрировались значительно реже ( $p = 0,028$  и  $p = 0,013$  соответственно) на фоне этиотропной терапии  $\alpha$ -интерфероном, что свидетельствует о подавлении вирусной репликации и активности ХГС при лечении препаратами  $\alpha$ -ИФН. Анти-NS5 и анти-HCV IgM могут считаться дополнительным маркером вирусной репликации и активности процесса при этиотропной терапии ХГС. Вирусологический ответ на курс интерферонотерапии значительно чаще ассоциировался с отсутствием анти-NS5 (62,5%,  $p = 0,038$ ) и отсутствием анти-HCV IgM (75,0%,  $p = 0,040$ ). Антитела к NS5 и анти-HCV IgM могут использоваться и в качестве прогностических факторов эффективности интерферонотерапии. Изучение анти-HCV IgM в динамике интерферонотерапии позволяет оценивать эффективность лечения.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Жаворонок С.В., Калинин А.Л., Ключарева А.А. и др. Система диагностики диффузных паренхиматозных поражений печени у различных групп населения с повышенным риском инфицирования вирусными гепатитами В, С, D, G. Методические рекомендации. — Мн., 1998.
2. Круглов И.В., Знойко О.О., Огиенко О.Л. и др. Спектр антител к различным антигенам HCV при разных вариантах течения хронической HCV-инфекции // Вопросы вирусологии. — 2002. — № 2. — С. 11–16.
3. Макашова В.В., Токмалаев А.К., Павлова Л.Е. Состояние иммунитета у больных ХГС на фоне интерферонотерапии. // Эпидемиол. и инф. болезни. — № 3. — 2002. — С. 36–40.
4. Новиков А.А., Цыган В.Н., Никитин В.Ю. и др. Дифференциальная лабораторная иммунодиагностика вирусных гепатитов: Методические рекомендации. — М., 2002. — 80 с.
5. Радченко В.Г., Шабров А.В., Нечаев В.В. Хронические заболевания печени (этиология, клиника, диагностика, лечение, эпидемиология и профилактика). — СПб.: Лань, 2000. — 192 с.
6. Соринсон С.Н. Вирусные гепатиты. — СПб.: ТЕЗА, 1998. — 325 с.
7. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей: Практич. рук.: Пер. с англ. — М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. — 864 с.
8. Ющук Н.Д., Огиенко О.Л., Круглов И.В. и др. Диагностическая значимость определения антител к различным антигенам вируса гепатита С у пациентов с острой и хронической HCV-инфекцией // Тер. архив. — 2002. — № 4. — С. 18–22.
9. Brillanti S., Masci K., Miglioli M., Barbara L. Serum IgM antibodies to hepatitis C virus in acute and chronic hepatitis C // Arch. Virol. — 1993. — № 8. — P. 213–218.
10. Garrido A., Lepe J.A., Guerrero F.J., Palomo S. Serologic response against hepatitis C virus as a predictive factor to the treatment with interferon // Enferm. Infecc. Microbiol. Clin. — 2000. — Vol. 18. — № 10. — P. 512–515.
11. Knolle P., Kremp S., Hohler T. et al. Viral and host factors in the prediction of response to interferon-alpha therapy in chronic hepatitis C after long-term follow-up. J Viral Hepatit. — 1998. — № 6. — P. 399–406.
12. Leung N.W. Management of viral hepatitis C. J Gastroenterol Hepatol. — 2002. — № 1. — P. 146–154.
13. Lohr H.F., Elste C., Dienes H.P. et al. The quantitative humoral immune response to the hepatitis C virus is correlated with disease activity and response to interferon-alpha // J. Hepatol. — 1996. — Vol. 25. — № 3. — P. 292–300.
14. Lohr H.F., Nagel C., Dienes H.P. et al. Significance of IgG and IgM HCV antibody secretion in vitro in patients with chronic hepatitis C: correlation with disease activity and response to interferon-alpha // Hepatology. — 1994. — Vol. 20. — № 6. — P. 1383–1389.
15. Papatheodoridis G.V., Delladetsima J.K., Katsoulidou A. et al. Significance of IgM anti-HCV core level in chronic hepatitis C // J. Hepatol. — 1997. — Vol. 27. — № 1. — P. 36–41.

Поступила 18.04.2005

УДК 616.36-002+616-006

### РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И ВЫРАЖЕННОСТЬ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С

Е.Л. Красавцев, Л.А. Мартемьянова, С.В. Жаворонок,  
И.Л. Павлович, Л.М. Красавцева, Е.И. Романова, В.М. Мицура

Гомельский государственный медицинский университет

Распространенность и выраженность морфологических изменений в биоптатах печени, используемых для полуколичественной оценки стадии заболевания по В.В. Серову и Л.О. Сивергиной (1996), сравнивалась у 100 больных хроническим гепатитом С (ХГС). При сравнении частоты обнаружения и выраженности различных проявлений фиброза у мужчин и женщин достоверных отличий не выявлено. У больных ХГС старше 40 лет гистологический индекс стадии заболевания был достоверно выше, чем у пациентов до 20 лет. Выраженность