

РОЛЬ ЦИТОКИНОВ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С

УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Беларусь

Проведена оценка вирусологического ответа у больных хроническим гепатитом С с различными генотипами вируса в зависимости от уровня цитокинов ИФН-у, ИЛ-4, ИЛ-1а, ФНО-а в сыворотке крови в различные сроки интерферонотерапии. Показана прогностическая значимость высоких уровней провоспалительного цитокина ИЛ-1а и ИЛ-4 для оценки эффективности интерферонотерапии в группе больных ХГС с не 1b генотипом HCV.

Ключевые слова: хронический вирусный гепатит С, вирусологический ответ, цитокины, интерферонотерапия

Введение

Вирус гепатита С (HCV) оказывает прямое цитопатическое действие, вызывающее цитолиз и клиренс инфицированных гепатоцитов. Это способствует активации клеток макрофагально-фагоцитарной и Т-эффекторной систем иммунитета. [1.6. 9]. Т-лимфоциты-хелперы (Тх) играют существенную роль в регуляции иммунного ответа. Тх клетки дифференцируются на 2 группы, разделяемые в зависимости от профиля вырабатываемых ими цитокинов: Тх1 и Тх2. Тх1 стимулируют Т-клеточный ответ и цитотоксичность Т-лимфоцитов и вырабатывают интерферон-у (ИФН-у), интерлейкин-2 (ИЛ-2), фактор некроза опухоли (ФНО-а) и др. Тх2 стимулируют гуморальное звено иммунитета и вырабатывают ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10 и др. [2, 6]. По функциональной активности цитокины разделяют на провоспалительные (ИЛ-1р, ФНО-а, ИФН-у) и противовоспалительные (ИЛ-4, ИЛ-10) [2.6].

Нарушение баланса продукции цитокинов Тх1/Тх2 клетками имеет большое значение в патогенезе хронизации и прогрессирования HCV-инфекции. Иммунный ответ по Тх1 типу способствует элиминации вируса, а по Тх2 типу - персистированию инфекции [1. 3, 6, 7, 8].

ИЛ-1 (а и р) продуцируется мононуклеарами периферической крови. Повы-

шение ИЛ-1 в сыворотке крови сопутствует целому ряду заболеваний воспалительного и аутоиммунного характера [2. 6]. ИЛ-1, как и ИЛ-4, способствует дифференцировке Тх2 лимфоцитов [2]. ФНО-а и ИЛ-1 способны активировать звездчатые клетки печени, играющие ключевую роль в фиброгенезе печени [4]. Кроме того, ФНО-а и ИЛ-1(3 способствуют развитию жировой инфильтрации печени и могут подавлять регенерацию печеночной ткани [4, 9]. Повышенное содержание Тх2 клеток и их цитокинов при ХГС может снижаться параллельно со снижением вирусной нагрузки при успешной комбинированной терапии рибавирином и α -ИФН [9]. Закономерности цитокиновой регуляции при ХГС и роль цитокинов при интерферонотерапии ХГС еще недостаточно изучены.

В настоящее время основным способом этиотропного лечения ХГС с доказанной эффективностью является применение а-интерферона (α -ИФН) [8]. Препараты а-ИФН обладают большей противовирусной, но меньшей иммуномодулирующей способностью, чем интерферон- γ [2]. Препараты α -ИФН обладают цитостатическим действием, что может вызывать ряд неблагоприятных эффектов: миелодепрессия, аллопеция, нарушение пищеварения, изменения психики [2, 8]. Неэффективность интерферонотерапии может быть связана с

иммунными нарушениями [5, 9]. Было показано повышение синтеза ИЛ-4 в культуре мононуклеарных клеток периферической крови *in vitro* под действием α -ИФН, прямо зависящее от дозы α -ИФН [10]. Повышенное содержание Тх2 клеток и их цитокинов при ХГС может снижаться параллельно со снижением вирусной нагрузки при успешной комбинированной терапии рибавирином и α -ИФН [9].

Цель исследования: определить роль цитокинов (ИФН-у, ИЛ-4, ИЛ-1 α , ФНО- α) в прогнозировании эффективности лечения препаратами интерферонов больных хроническим гепатитом С.

Материал и методы исследования

Содержание цитокинов ИФН-у, ИЛ-4, ИЛ-1 α , ФНО- α определялось до начала лечения в сыворотках крови у 38 больных ХГС, у которых ранний вирусологический ответ был известен, и у 34 пациентов с известным устойчивым или длительным вирусологическим ответом. Для определения уровней цитокинов ИФН-у, ИЛ-1 α , ИЛ-4 и ФНО- α в сыворотках крови исследуемых лиц применялись иммуноферментные наборы реагентов для определения цитокинов «ProCon IL-2», «ProCon IL-4», «ProCon TNF alpha», «ProCon IL-1p» (ООО «Протеиновый контур». С-Петербург).

Диагноз у всех больных был верифицирован путем обнаружения РНК вируса гепатита С методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Использовались тест-системы фирмы «АмплиСенс» (Россия). Генотип

вируса определялся методом ПЦР (тест-система «АмплиСенс HCV-МОНИТОР-FRT»). Статистическая обработка полученных результатов выполнена с использованием пакета статистического анализа данных STATISTICA v. 6.0, прогностическую значимость оценивали с помощью модуля ROC анализа программы MedCalc v. 7.4.4.1. Статистически значимой считалась 95% вероятность различий ($\alpha=0,05$).

Результаты исследования

Результаты исследования уровня цитокинов до начала терапии (учитывая отсутствие нормального распределения уровней цитокинов. при статистическом анализе был использован непараметрический критерий Манна-Уитни) у больных ХГС в зависимости от вирусологического ответа в различные сроки от начала терапии представлены в таблице 1 (указано медиана (Me) и межквартильный интервал между 25% и 75% перцентилем (МКИ), концентрации цитокинов в пг/мл).

У больных ХГС как с ранним так и с устойчивым или длительным вирусологическим ответом регистрировались более высокие уровни ИЛ-4, ИЛ-1 α , ФНО- α , чем у пациентов, у которых этот ответ не наблюдался (различия статистически не значимы, $p>0,05$).

Так как неблагоприятным прогностическим фактором, влияющим на результат противовирусной терапии, является 1b генотип HCV [8], нами проведено сравнение уровня цитокинов до начала интерфероно-

Таблица 1 - Уровни цитокинов в сыворотке крови до начала терапии при ХГС у больных с различным вирусологическим ответом

Цитокин	Ранний вирусологический ответ		Устойчивый или длительный вирусологический ответ	
	Ответ, n=25	Не-ответ, n=13	Ответ, n=11	Не-ответ, n=23
ИФН γ , пг/мл	12,00 7,34-21,65	21,2 14,12-50,47	12,00 5,64-21,65	12,00 6,86- 16,49
ИЛ-4, пг/мл	16,48 8,34-30,76	4,65 0,56-21,04	15,78 9,78-28,14	10,98 0,76- 24,56
ИЛ-1 α , пг/мл	86,5 12,12-160,65	27,81 18,17-57,75	86,49 9,0-107,45	32,71 18,17- 72,31
ФНО- α , пг/мл	4,34 1,01-6,08	1,74 0,0-4,2	4,34 1,16-6,08	2,75 0,00- 5,35

терапии в зависимости от вирусологического ответа у больных ХГС с 1b генотипом и другими генотипами HCV (таблицы 2 и 3).

У больных ХГС с 1b генотипом с ранним вирусологическим ответом несколько выше был уровень ИЛ-1 α , чем у лиц без вирусологического ответа в эти сроки ($p > 0,05$). Содержание других исследованных цитокинов было примерно одинаковым как у лиц с ранним и устойчивым или длительным вирусологическим ответом, так и у пациентов, у которых РНК HCV продолжала определяться.

У пациентов с ХГС с другими генотипами HCV уровни ИЛ-4, ИЛ-1 α , ФНО- α были выше при вирусологическом ответе как через 3 месяца от начала терапии, так и после окончания лечения, чем при отсутствии вирусологического ответа, причем для ИЛ-4 при раннем вирусологическом ответе, а для ИЛ-1 α при устойчивом или длительном выявленные отличия были статистически значимы ($p < 0,05$).

Для анализа прогностической значимости уровней исследованных цитокинов, для которых получены значимые различия при неодинаковом вирусологическом ответе в различные сроки лечения с помощью теста Манна-Уитни (см. таблицу 3), использовался ROC-анализ (рисунок 1, рисунок 2).

Прогностическое значение исследованных цитокинов для оценки эффективности интерферонотерапии при ХГС с другими генотипами HCV оценивали на основе сравнения площадей под характеристической кривой (ППК), 95% доверительного интервала (ДИ) оценки площади, находилась точка деления, оценивалась чувствительность (Чв) и специфичность (Сп) данного параметра при использовании найденной точки деления (таблица 4).

Показано прогностическое значение уровня ИЛ-1 α для раннего и отдаленного вирусологического ответа. Так, при точке деления $\leq 57,76$ пг/мл можно прогнозировать отсутствие эффективности ле-

Таблица 2 – Уровни цитокинов в сыворотке крови до начала терапии при ХГС с 1b генотипом HCV у больных с различным вирусологическим ответом

Цитокин	Ранний вирусологический ответ		Устойчивый или длительный вирусологический ответ	
	Ответ, n=11	Не-ответ, n=8	Ответ, n=4	Не-ответ, n=14
ИФН γ , пг/мл	12,00 6,86-15,61	14,93 11,08-17,8	14,5 3,67- 54,5	13,37 10,16-16,05
ИЛ-4, пг/мл	9,78 1,01-18,65	12,72 4,23-22,8	10,7 8,03-15,13	11,88 3,82-24,56
ИЛ-1 α , пг/мл	70,88 8,62 -160,65	36,39 19,14-66,71	39,3 4,58-186,29	53,05 21,61-101,63
ФНО- α , пг/мл	3,18 0,00-5,21	2,24 0,72-4,41	2,1 0,51-4,2	3,11 1,45-5,06

Таблица 3 – Уровни цитокинов (Ме, МКИ) в сыворотке крови до начала терапии при ХГС с другими генотипами HCV у больных с различным вирусологическим ответом

Цитокин	Ранний вирусологический ответ		Устойчивый или длительный вирусологический ответ	
	Ответ, n=14	Не-ответ, n=5	Ответ, n=7	Не-ответ, n=9
ИФН γ , пг/мл	14,25 7,34-37,6	11,54 1,0-16,5	12,00 5,64- 19,1	9,22 4,94-16,5
ИЛ-4, пг/мл	26,26* 15,78-55,58	0,25 0,13-0,56	24,38 13,21-30,76	1,25 0,25-20,47
ИЛ-1 α , пг/мл	91,22 12,12 -205,87	12,57 7,78-43,76	95,94* 12,12-107,45	21,11 7,78-32,71
ФНО- α , пг/мл	4,7 1,16-16,35	1,74 0,0-4,2	5,64 3,76-16,35	1,73 0,00-5,35

Примечание: статистически значимые различия между группами больных ХГС с вирусологическим ответом и его отсутствием отмечены * ($p < 0,05$).

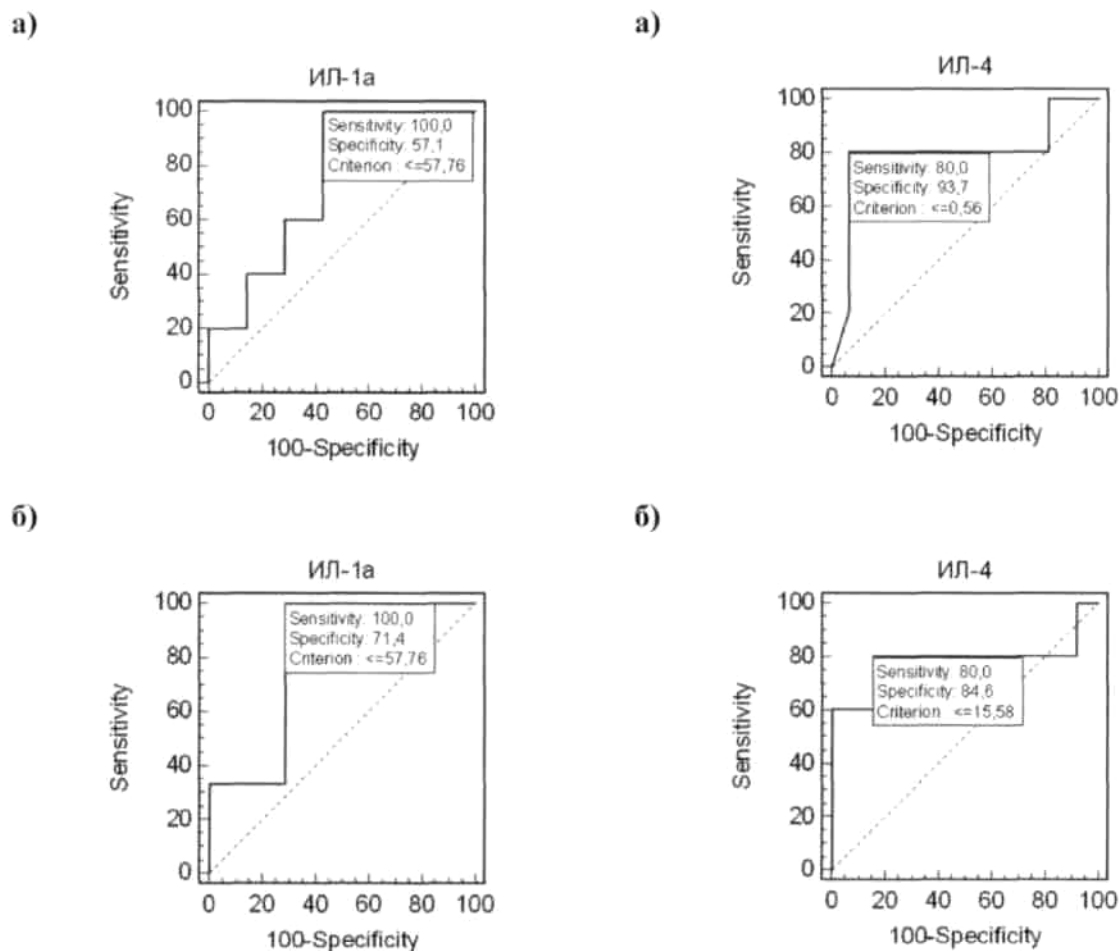


Рисунок 1 – ROC- кривые для ИЛ-1α при раннем и отдаленном вирусологическом ответе при других генотипах HCV

Рисунок 2 – ROC- кривые для ИЛ-4 при раннем и первичном вирусологическом ответе при других генотипах HCV

Таблица 4 – Прогностическое значение исследованных цитокинов для оценки эффективности интерферонотерапии при ХГС с другими генотипами HCV

Цитокин	Ответ	ППК	95% ДИ	p	точка разделения, пг/мл	Чв, %	Сп, %
ИЛ-1 α	ранний	0,743	0,494-0,911	0,0447	<=57,76	100,0	57,1
	отдаленный	0,810	0,540-0,956	0,0079	<=57,76	100,0	71,4
ИЛ-4	ранний	0,794	0,563-0,936	0,0049	<=0,56	80,0	93,7
	первичный	0,785	0,531-0,938	0,0116	<=15,58	80,0	84,6
ФНО-α	ранний	0,737	0,502-0,902	0,0453	<=4,2	80,0	68,7

чения через 3 месяца от начала терапии (чувствительность 100%, специфичность 57,1%, $p=0,045$), и при оценке устойчивого или длительного ответа (чувствительность 100%, специфичность 71,4%, $p=0,008$).

Также имеет прогностическое значение и содержание ИЛ-4. Так, терапия препаратами интерферонов будет неэффек-

тивна при прогнозировании раннего ответа при точке разделения $\leq 0,56$ пг/мл (чувствительность 80%, специфичность 93,7%, $p=0,005$), и первичного ответа при точке разделения $\leq 15,58$ пг/мл (чувствительность 80%, специфичность 84,6%, $p=0,012$).

Кроме этого, при прогнозировании раннего ответа имеет значение и уровень

ФНО - α (точка разделения $\leq 4,2$ пг/мл, чувствительность 80%, специфичность 68,7%, $p=0,045$).

Заключение

Более высокие уровни ($p=0,039$) провоспалительного цитокина ИЛ-1 α (Ме 95,94 пг/мл), в группе больных ХГС с не 1 β генотипом HCV ответивших на терапию через 6 месяцев и более после окончания лечения, чем у не ответивших (Ме 21,11 пг/мл), свидетельствуют о значении активации макрофагов вследствие персистенции в организме HCV у этих больных перед началом лечения, что может быть использовано для прогнозирования вирусологического ответа. У лиц с ХГС с не 1 β генотипом HCV с ранним вирусологическим ответом отмечался более высокое содержание ИЛ4 (Ме,26,26 пг/мл, $p=0,026$) чем у не ответивших в эти сроки лечения (Ме 0,25 пг/мл), что указывает на значение системного Тх2 ответа в начале терапии препаратами ИФН у этих больных. При проведении ROC-анализа показано значение уровней ИЛ-1 α , ИЛ-4 и ФНО- α для прогнозирования вирусологического ответа в группе больных ХГС с не 1 β генотипом HCV. Так, для ИЛ-1 α при точке разделения $\leq 57,76$ пг/мл можно прогнозировать отсутствие эффективности лечения через 3 месяца от начала терапии (чувствительность 100%, специфичность 57,1%, $p=0,045$). и при оценке устойчивого или длительного ответа (чувствительность 100%, специфичность 71,4%, $p=0,008$). Терапия препаратами интерферонов будет неэффективна при прогнозировании раннего ответа при точке разделения $\leq 0,56$ пг/мл (чувствительность 80%, специфичность 93,7%, $p=0,005$). и первичного ответа при точке разделения $\leq 15,58$ пг/мл (чувствительность 80%, специфичность 84,6%, $p=0,012$) при исследовании содержания ИЛ-4. При прогнозировании раннего ответа имеет значение и уровень ФНО- α (точка разделения $\leq 4,2$ пг/мл, чувствительность 80%, специфичность 68,7%. $p=0,0453$).

Библиографический список

1. Абдукадырова, М.А. Прогностические маркеры хронизации вирусного гепатита С / М.А. Абдукадырова // Иммунология. - 2002.-№1.-С. 47-54.
2. Кетлинский, С. А. Иммунология для врача / С.А. Кетлинский, Н.М. Калинина. - СПб.: Гиппократ, 1998. - 156 с.
3. Особенности иммунного ответа у больных хроническим вирусным гепатитом С / В.Т. Ивашкин [и др.] // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. - 2001. - №3.— С. 24-29.
4. Пинцани. М. Эволюция фиброза печени: от гепатита к циррозу / М. Пинцани // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. - 2002. - №5. - С. 4-9.
5. Радченко, В.Г. Оптимизация этиопатогенетической терапии хронического гепатита С: Пособие для врачей-терапевтов, гастроэнтерологов, гепатологов, инфекционистов / В.Г. Радченко, В.В. Стельмах. В.К. Козлов. - СПб.: СПбГМА, 2004. -168 с.
6. Содержание цитокинов Тх1 и Тх2 типа в сыворотке крови больных гепатитом С / Д.Х. Курамшин [и др.] // Журн. микробиол.-2001.-№1.-С. 57-61.
7. Справочник по иммунотерапии для практического врача / А.С. Симбирцев [и др.]; под ред. А.С. Симбирцева. - М.: Диалог, 2002. - 480 с.
8. Шерлок, Ш. Заболевания печени и желчных путей: Практич. рук. (Пер. с англ.) / Ш. Шерлок, Дж. Дули. - М.: Гэотар Медицина, 1999,-864 с.
9. Immunoregulatory cytokines in chronic hepatitis C virus infection: pre-and posttreatment with interferon alfa / T.V. Cacciarelli [etal.] // Hepatology.- 1996-V. 24. №1. P. 6-9.
10. Kaser, A. Differential regulation of interleukin 4 and interleukin 13 production by interferon α / A. Kaser. C. Molnar. H. Tilg // Cytokine. - 1997. - V. 10, №2. - P. 75-81.

Е.Л. Красавцев, В.М. Мицура

E.L. Krasavtsev, V.M. Mitsura

ROLE OF CYTOKINES IN FORECASTING OF TREATMENT EFFICIENCY IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C

In patients with chronic hepatitis C with various viral genotypes depending on level of cytokines IFN- γ , IL-4, IL-1 a, the TNF-a in blood serum the estimation of the virologic response is provided in various terms of interferon therapy. The prognostic significance of high levels of proinflammatory cytokine IL-1 a and IL-4 for an efficiency estimation of interferon therapy in group of patients with not 1b genotype HCV is shown.

Key words: *chronic viral hepatitis C, virologic response, cytokines, interferon therapy*

Поступила 22.02.11