

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ АНТИТЕЛОГЕНЕЗА ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С

Т.Я. ЧЕРНОБРОВКИНА, профессор С.Н. ЖАРОВ, профессор В.И. ЛУЧШЕВ

*Российский государственный медицинский университет, Москва,
Российская Федерация*

Выявлен дифференцированный характер спектра антител к структурным и неструктурным белкам вируса гепатита С в сыворотке и эритроцитах крови больных в связи с особенностями патогенеза HCV-инфекции и в зависимости от периода болезни. Предложено параллельное исследование спектров антител к белкам вируса гепатита С в сыворотке и эритроцитах крови с целью усовершенствования дифференциальной диагностики формы и фазы течения заболевания вирусным гепатитом, объективизации его прогноза и определения лечебной тактики.

Высокий уровень инфицирования населения вирусными гепатитами, нарастающая распространенность наркологических заболеваний с преобладанием внутривенно вводимых наркотических средств, значительное омоложение возрастных групп больных, рост частоты хронических форм болезни, приводящих к снижению трудоспособности и дальнейшему распространению инфекции среди населения, определяют многогранность проблемы вирусных гепатитов и актуальность ее исследования специалистами разных областей [1–4]. В настоящее время в мире около 500 млн человек поражено гепатитом С, который является основной причиной хронического гепатита, цирроза печени и гепатокарциномы [5]. Резкое увеличение встречаемости микст-гепатитов в последние годы связывают с распространением наркомании вследствие употребления инъекционных наркотических средств. Так, отмечено, что частота внутривенного введения наркотических веществ среди пациентов с микст-инфекцией В+С достигает 85% [6, 7]. В зависимости от времени инфицирования выделяют два варианта течения микст-инфекции: по типу коинфекции и по типу суперинфекции [8, 9].

Клиническая диагностика гепатита С затруднена в связи с преимущественно бессимптомным течением HCV-инфекции на фоне умеренного повышения активности трансаминаз в крови, редкостью желтушных форм заболевания, что диктует необходимость поиска дополнительных объективных диагностических критериев. Из литературных источников известно, что геном вируса гепатита С кодирует три структурных белка: протейн С (core, ядерный), E1 и E2 (протейны оболочки) и четыре неструктурных белка: NS2, NS3, NS4 (A, B), NS5 (A, B). К каждому из белков в организме человека вырабатываются антитела, циркулирующие в крови. Предлагается широкий спектр современных иммунологических и молекулярно-биологических диагностических тест-систем, а также гистологических исследований печени для выявления антител, антигенных маркеров и РНК вируса гепатита С, различающихся своей чувствительностью и специфичностью [10]. Наиболее ранним маркером заболевания является присутствие в сыворотке крови RNA-HCV, которая может выявляться через 1–3 нед от момента инфицирования. Однако положительная

RNA-HCV в сыворотке крови регистрируется лишь у 25% инфицированных ВГС на фоне нормальных уровней активности трансаминаз, поэтому чаще заболевание длительное время остается нераспознанным [11].

Антитела к структурным белкам обычно определяются в сыворотке крови через 6–8 нед от момента инфицирования, причем они не обладают вируснейтрализующими свойствами, достаточными для элиминации вируса. Именно белки внешней оболочки (E1 и E2) вируса гепатита С имеют участки с высокой частотой аминокислотных замен, вследствие чего образуется большое число генотипов и субтипов. Соответственно их называют гипервариабельным регионом. Антитела к неструктурным белкам определяются в сыворотке крови несколько позже (через 10 нед от начала болезни). Возможные отклонения от стандартных интервалов времени связаны с концентрацией вируса, способом заражения и состоянием иммунной системы [12].

Появляется все больше данных о предполагаемых функциях и прогностическом значении как антигенов, так и антител к вирусу гепатита С. Считают, что нуклеокапсидный белок активирует апоптоз инфицированных клеток, способствует увеличению числа рецепторов апоптоза на клеточной мембране гепатоцита и повышению чувствительности клетки к проапоптотическим стимулам. Так, за чувствительность к интерферону, возможно, отвечает NS5 (A, B) белок. Высокий титр антител к поверхностным (структурным) белкам в острой фазе заболевания характеризует благоприятное течение HCV-инфекции [13]. Отсутствие антител к NS5 белку у больных ОГС характерно для периода реконвалесценции [14]. Выявление анти-NS4 ассоциируется с поздними морфологическими стадиями болезни — циррозом печени [15]. Диагностическая интерпретация антител к NS3 — неструктурному белку, по данным литературы, неоднозначна. Кроме того, данные о маркерах вируса С изучались в образцах сыворотки крови больных в основном при моноинфекции HCV. Однако доказанная репликация вируса гепатита С не только в клетках печени, но и в клетках эпителия, кератиноцитах, лимфоидных клетках и даже клетках крови послужила основанием для исследования маркеров ВГС на эритроцитах крови больных [16, 17].

Целью настоящего исследования являлось усовершенствование дифференциальной диагностики HCV-инфекции на основании обнаружения антител к структурным и неструктурным белкам вируса гепатита С не только в сыворотке, но и на эритроцитах крови больных.

Клиническая картина, лабораторные показатели и антителогенез были изучены у 57 больных, страдающих HCV-инфекцией и микст-инфекцией HCV + HBV. Первую группу пациентов, получавших базисную терапию, составили 17 больных с ОГС, вторую — 15 человек с обострением ХГС, третью — 25 пациентов с микст-инфекцией HCV+HBV по типу суперинфекции ОГВ+ХГС. Клинический диагноз вирусного гепатита ставился на основании комплексной оценки, основанной на анализе семейного и эпидемиологического анамнеза заболевания, клинической картины, данных осмотра, биохимических параметров морфофункциональной целостности печени, определяемых в сыворотке крови, ультразвуковой характеристике паренхимы печени и селезенки, серологических и вирусологических данных.

У всех больных наблюдалось среднетяжелое течение вирусного гепатита. Возраст больных, преимущественно лиц мужского пола, составлял от 18 до 40 лет. Длительность ХГС у обследованных составляла от 1 года до 4 лет.

Определение спектра антител класса IgM и IgG к вирусу гепатита С в сыворотке и на эритроцитах крови проводилось методом иммуноферментного анализа (ELISA-3) с использованием тест-систем «ИФА-АНТИ-HCV-СПЕКТР» и «ИФА-АНТИ-HCV-СПЕКТР-GM» НПО «Диагностические системы» (Нижний Новгород). Результаты измеряли спектрофотометрически при длине волны 450 нм. Исследование крови проводилось в динамике: в день госпитализации больного, через 1 и 12 мес.

При исследовании спектра маркеров HCV-инфекции в сыворотке и на эритроцитах крови в условиях динамического наблюдения за больными получены результаты, представленные на рисунке.

Как видно из рисунка, антитела к ядерному белку (core) ВГС обнаруживаются в сыворотке крови у всех больных с моно-HCV-инфекцией при госпитализации в стационар и у 84% пациентов с микст-инфекцией ОГВ+ХГС. В динамике заболевания сохраняется 100% выявляемость этих антител во всех группах.

Таким образом, наличие антител к core белку в сыворотке крови практически у всех больных при поступлении в стационар и после базисной терапии может свидетельствовать только о наличии у них HCV-инфекции, не указывая на длительность течения и период заболевания. Следовательно, характерный спектр антител к структурному core белку в сыворотке крови больных является недостаточным для дифференциальной диагностики HCV-инфекции.

Параллельное определение спектра антител на эритроцитах крови показало, что в них сохраняется наибольшая выявляемость анти-core у всех больных (ОГС — 71%; ХГС — 73%; ОГВ+ХГС — 84%) в период разгара болезни и в период реконвалесценции у пациентов с ХГС (86%) и микст-инфекцией (59%)

в противоположность больным с ОГС, у которых выявляемость не превышает 20% ($p < 0,02$). Это позволяет при одновременном сопоставлении результатов изучения спектра антител к ядерному core белку в сыворотке и во фракции эритроцитов крови с большей вероятностью разграничить острое и хроническое течение HCV-инфекции.

В отношении антител к NS3 белку ВГС отмечается 100% их определяемость в сыворотке у больных с ОГС и с несколько меньшей частотой — у пациентов с ХГС (87%) при поступлении в стационар. Достоверно более низкая встречаемость анти-NS3 (68%) зарегистрирована у пациентов с микст-инфекцией ОГВ+ХГС по сравнению с больными ОГС ($p < 0,001$). В динамике заболевания наблюдалось достоверное увеличение частоты анти-NS3 в сыворотке крови только в группе пациентов с микст-инфекцией ОГВ+ХГС (94%, $p < 0,02$). Таким образом, результаты определения только сывороточного спектра антител к NS3 белку у пациентов в сравниваемых группах не позволяют судить о длительности течения заболевания, а могут лишь подтверждать факт инфицирования вирусом С.

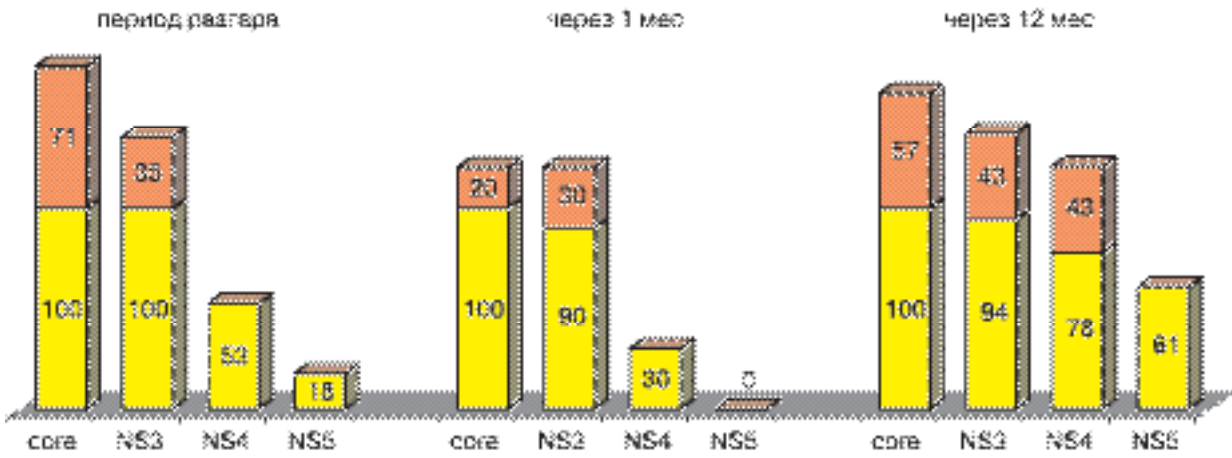
В то же время исследование этих антител на эритроцитах крови дает дополнительную информацию. Достоверно более низкий процент встречаемости анти-NS3 наблюдается у пациентов с ОГС (30%) и микст-инфекцией ОГВ+ХГС (35%) по сравнению с больными ХГС (79%) в период реконвалесценции ($p < 0,05$). Следовательно, низкий процент встречаемости антител к NS3 белку у больных на эритроцитах крови наряду с высоким уровнем их встречаемости в сыворотке крови позволяет предположить острое течение заболевания. В случае же сочетанного вирусного поражения печени, по-видимому, имеет место взаимоингибирование ВГВ и ВГС, что соответствует данным литературы.

Таким образом, выявленные изменения антителогенеза к ядерному (core) и неструктурному (NS3) белкам при определении антител обоих классов одновременно в сыворотке и на эритроцитах крови позволяют с большей достоверностью сориентировать практического врача в дифференциальной диагностике и прогнозировании заболевания.

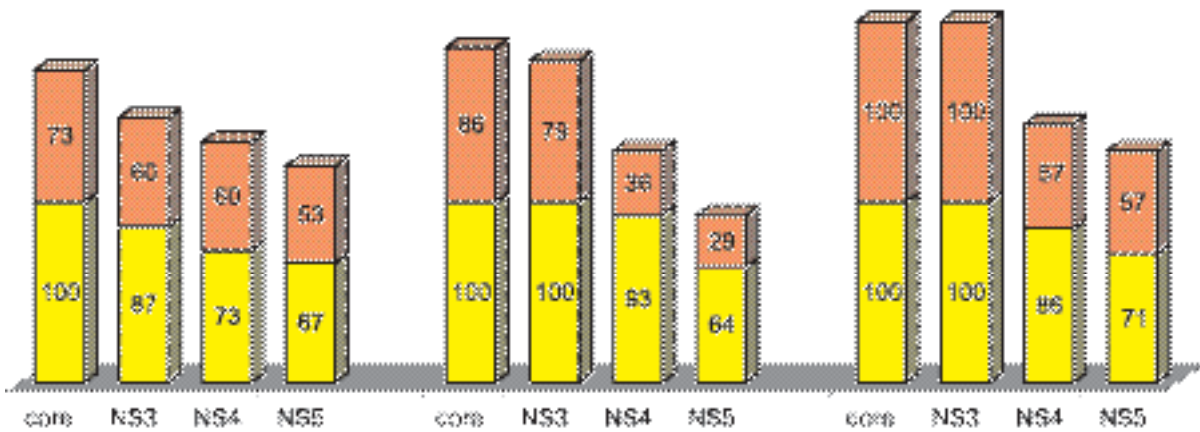
Достоверных различий уровня и встречаемости антител к NS4 белку в сыворотке крови больных в сравниваемых группах в период разгара заболевания не выявлено. В период ранней реконвалесценции отмечается тенденция к снижению встречаемости анти-NS4 у больных с ОГС (53→30%) без достоверных отличий. Увеличение процента встречаемости анти-NS4 отмечается у пациентов с ХГС (73→93%) и микст-инфекцией ОГВ+ХГС (52→82%), причем при микст-инфекции это увеличение является достоверным по сравнению с показателем при поступлении ($p < 0,05$).

При сравнении встречаемости анти-NS4 в период перед выпиской из стационара достоверно более низкий показатель отмечается у больных ОГС (30%) по сравнению с другими группами (ХГС — 93%, ОГВ+ХГС — 82%), что с большой вероятностью позволяет предположить благоприятное течение

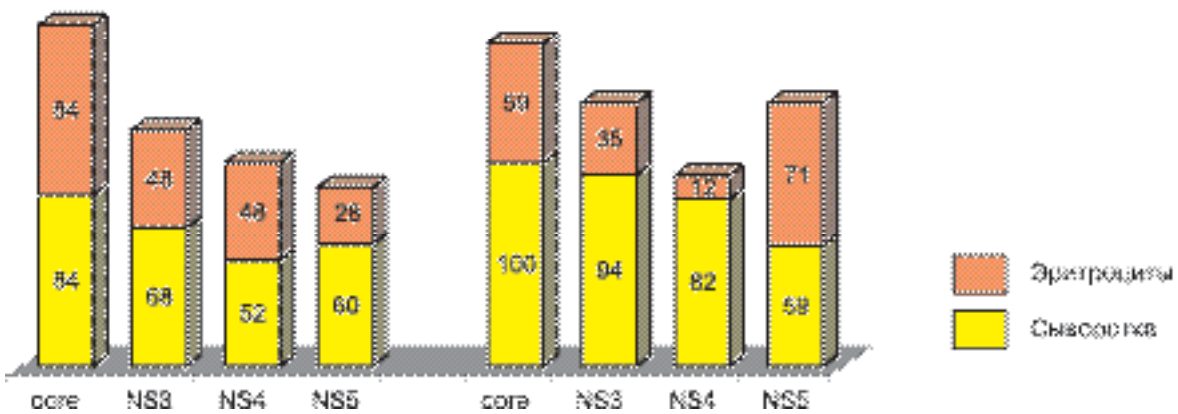
Острый гепатит С



Хронический гепатит С



Микст-инфекция ОГВ+ХГС



Выявляемость антител к белкам вируса гепатита С в сыворотке и на эритроцитах крови (в %)

HCV-инфекции ($p < 0,02$). С другой стороны, на эритроцитах крови тех же больных с ОГС в период разгара и реконвалесценции эти антитела не выявляются. Таким образом, соотношение уровня этих антител в сыворотке и на эритроцитах может дать определенную информацию о стадии заболевания.

Практически похожая дифференцированная картина антител отмечена при изучении динамики уровня анти-NS5. Отсутствие этих антител на эритроцитах выявлено у пациентов с ОГС независимо от периода заболевания. Следовательно, их одновременное отсутствие в сыворотке и на эритроцитах крови может служить высоковероятным показателем острого характера заболевания.

Таким образом, на основании результатов параллельного изучения спектра антител к белкам ВГС в сыворотке и на эритроцитах крови больных ВГС можно сделать следующее заключение.

Литература

1. Соринсон С.Н. Вирусные гепатиты.— Л.: Теза, 1998.— 310 с.
2. Подымова С.Д. Болезни печени: Руковод. для врачей.— М.: Медицина, 1998.— 700 с.
3. Шахгильдян И.В. Эпидемиологические особенности вирусных гепатитов В и С // 3-я Рос.-итал. конф. по инфекционным болезням: Новое в диагностике и терапии: Тез. докл. науч. конф.— М., 1998.— С. 1–2.
4. Онищенко Г.Г. О государственных мерах по предупреждению распространения в Российской Федерации заболеваемости инфекционными гепатитами // Эпидемиол. и инфекционные болезни.— 2002.— № 33.— С. 4–8.
5. Поражение печени в наркологической практике: Пособие для врачей / Е.В. Волчкова, Т.Н. Лопаткина, Ю.П. Сиволап, В.А. Савченков.— М., 2002.— 91 с.
6. Кожевникова Г.М., Ющук Н.Д. Вирусные гепатиты у наркоманов // Лечащий врач.— 1998.— № 4.— С. 74–77.
7. Жмуровская Л.С. Клинико-лабораторные и иммунологические особенности острых гепатитов В, С и манифестной формы микст-гепатита В+С у инъекционных наркопотребителей: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— Минск, 2002.— 20 с.
8. Мукомолов С.Л. Вирусный гепатит С. Клинико-эпидемиологическая и лабораторная характеристика: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— С.Пб., 1994.— 35 с.
9. Никитин И.Г., Сторожаков Г.И. Хронический гепатит С: актуальные вопросы диагностики и лечения // Клини. перспективы в гастроэнтерол., гепатол.— 2001.— № 3.— С.7–11.
10. Вирусные гепатиты и их диагностика в иммуноферментных системах: Метод. рек. / А.Н. Бурков, Т.В. Блинова, А.Н. Маянский, Г.М. Лапшина.— Н. Новгород, 1998.— 47 с.
11. Воронкова Н.В. Хронический гепатит С с нормальным уровнем трансаминаз: клиника, диагностика, тактика ведения больных: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— М., 2002.— 28 с.
12. Хронические вирусные гепатиты (этиология, патогенез, подходы к терапии): Учеб.-метод. пособие для врачей / Т.П. Демиденко, А.Н. Каменцева, Н.И. Кузнецов и др.— Л., 2003.— 35 с.
13. Ветров Т.А. Клиническое значение определения антител к поверхностным белкам вируса гепатита С: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— С.Пб., 2003.— 14 с.
14. Дудина К.Р. Параметры иммунного ответа как прогностические факторы исходов острого гепатита С: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— М., 2003.— 23 с.
15. Жаров С.Н. Особенности клинико-патогенетического течения и лечения парентеральных вирусных гепатитов: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— М., 2003.— 45с.
16. Динамика антител к структурным и неструктурным белкам у наркоманов с HCV-инфекцией / В.И. Лучшев, С.Н. Жаров, М.З. Шахмарданов и др. // Эпидемиол. и инфекционные болезни.— 2001.— №6.— С. 30–32.
17. Localization on hepatitis C virus RNA on human erythrocytes by in situ PCR technique / G. Lotz, F. Szalay, G. Firneisz et al. // Scand. J. Gastroenterol.— 2002.— Vol. 37(5).

Поступила 10.12.2004

SOME ASPECTS OF ANTIBODY DEVELOPMENT IN VIRAL HEPATITIS C

T.Ya. Chernobrovkina, S.N. Zharov, V.I. Luchshev

Summary

Differentiated character of the antibodies to the structural and non-structural proteins of hepatitis C virus was revealed in the blood serum and erythrocytes of the patients in association with the peculiarities of pathogenesis of HCV infection depending on the period of the disease. Simultaneous study of antibody spectra to the proteins of hepatitis C virus in the blood serum and erythrocytes with the purpose of improvement of differential diagnosis of the form and phase of the disease as well as objectivation of its prognosis and determining therapeutic tactics was suggested.