

ВЛИЯНИЕ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С НА СИНТЕЗ ЦИТОКИНОВ И ПРОЦЕССЫ ФИБРОЗИРОВАНИЯ В ПЕЧЕНИ

В. В. Щёкотов¹, И. А. Булатова¹, А. П. Щёкотова¹, Н. И. Насибуллина¹, Г. Г. Ларионова², А. И. Павлов³

¹ ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е. А. Вагнера» Минздрава России; Россия, 614990, Пермь, ул. Куйбышева, 39;

² ГБУЗ Пермского края «Пермская краевая клиническая инфекционная больница»; Россия, 14990, Пермь, ул. Пушкина, 96;

³ ФГБУ «3-й Центральный военный клинический госпиталь им. А. А. Вишневого» Минобороны России; 143400, Красногорск, ул. Светлая, 11

Контакты: Ирина Анатольевна Булатова bula.1977@mail.ru

Цель исследования — оценить динамику содержания фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α), интерлейкина-4 (ИЛ-4), интерлейкина-6 (ИЛ-6) и показателей фиброза печени — гиалуроновой кислоты (ГК) и индекса эластичности печени — под влиянием комбинированной противовирусной терапии (ПВТ) интерфероном альфа-2b и рибавирином у больных хроническим гепатитом С (ХГС).

Материал и методы. Обследовано 50 пациентов с ХГС. В сыворотке крови оценивали уровень ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-6 и ГК иммуноферментным анализом. Стадию фиброза печени определяли методом фиброэластографии с оценкой индекса эластичности печени, динамику показателей — в момент окончания ПВТ у 20 больных. Вирологический эффект контролировали после окончания терапии и через 6 мес.

Результаты. У пациентов с ХГС в фазе реактивации выявлено увеличение активности ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-6 в 84, 100, 60 % случаев соответственно ($p < 0,001$; $p < 0,001$; $p = 0,01$ соответственно). Медиана концентрации ГК в сыворотке крови при ХГС в 1,8 раза превышала уровень этого показателя в группе контроля ($p = 0,03$), индекс эластичности печени в среднем составил 6,5 кПа. Уровни ФНО- α и ИЛ-6 коррелировали с вирусемией, трансаминазами и показателями фиброза печени. На момент окончания комбинированной ПВТ вирусологический ответ достиг 85 %, что сопровождалось значимым уменьшением выраженности цитоллиза, концентрации ГК, индекса эластичности печени до 5,4 кПа (3,6–6,8 кПа) ($p < 0,04$) и снижением активности исследованных цитокинов. Стойкий вирусологический ответ составил 80 %. У пациентов, не ответивших на ПВТ, уменьшился только уровень ИЛ-4, а концентрации ФНО- α и ИЛ-6 сохранились на исходном уровне.

Заключение. Мониторинг ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-6 и ГК целесообразен для оценки тяжести поражения печени при ХГС и прогноза эффективности ПВТ.

Ключевые слова: хронический гепатит С, цитокин, фактор некроза опухоли- α , интерлейкин-4, интерлейкин-6, гиалуроновая кислота, фиброз печени, эластография, индекс эластичности печени, вирусемия, противовирусная терапия, рибавирин, интерферон альфа-2b

DOI: 10.17650/1818-8338-2015-9-2-28-35

IMPACT OF ANTIVIRAL THERAPY FOR CHRONIC HEPATITIS C ON CYTOKINE SYNTHESIS AND HEPATIC FIBROSING PROCESSES

V. V. Shchekotov¹, I. A. Bulatova¹, A. P. Shchekotova¹, N. I. Nasibullina¹, G. G. Larionova², A. I. Pavlov³

¹ Acad. E. A. Vagner Perm State Medical Academy, Ministry of Health of Russia; 39 Kuibyshev St., Perm, 614990, Russia;

² Perm Territorial Clinical Infectious Diseases Hospital; 96 Pushkin St., Perm, 614990, Russia;

³ A. A. Vishnevsky Third Central Military Clinical Hospital, Ministry of Defense of Russia; 11 Svetlaya St., Krasnogorsk, 143400, Russia

Objective: to estimate the time course of changes in the levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-4 (IL-4), IL-6, and the hepatic fibrosis indicators hyaluronic acid (HA) and liver elasticity index during combined antiviral therapy (AVT) with interferon alpha-2b and ribavirin in patients with chronic hepatitis C (CHC).

Subjects and methods. Fifty patients with CHC were examined. Serum TNF- α , IL-6, IL-4, and HA were estimated using an enzyme immunoassay. The stage of hepatic fibrosis was determined by fibroelastography with the liver elastic index being measured; the time course of changes in the indicators was assessed in 20 patients at the end of AVT. A virological response was monitored at therapy completion and 6 months later.

Results. The patients with CHC in the reactivation phase were found to have enhanced TNF- α , IL-6, and IL-4 activities in 84, 60, and 100 % of the cases, respectively ($p < 0.001$, $p = 0.01$, $p < 0.001$, respectively). The median serum concentration of HA in CHC was 1.8-fold higher than that in the control group ($p = 0.03$); the liver elastic index averaged 6.5 kPa. TNF- α and IL-6 levels correlated with viremia,

transaminases, and hepatic fibrosis indicators. At combined AVT completion, the virological response rate was as high as 85 %, which was attended by a considerable reduction in cytolysis, HA concentrations, and liver density index to 5.4 kPa (3.6–6.8 kPa) ($p < 0.04$), and in the activity of the examined cytokines. The sustained virological response rate was 80 %. Only IL-4 levels decreased and TNF- α and IL-6 concentration remained at the baseline level in patients unresponsive to AVT.

Conclusion. *It is expedient to monitor TNF- α , IL-4, IL-6, and HA to evaluate the severity of liver involvement in CHC and to predict the efficiency of AVT.*

Key words: *chronic hepatitis C, cytokine, tumor necrosis factor- α , interleukin-4, interleukin-6, hyaluronic acid, hepatic fibrosis, elastography, liver elasticity index, viremia, antiviral therapy, ribavirin, interferon alpha-2b*

Введение

В патогенезе иммуновоспалительного процесса, хронизации и прогрессировании инфекции вируса гепатита С при хроническом гепатите С (ХГС) большое значение имеет нарушение баланса продукции цитокинов, которые являются ключевыми медиаторами воспалительного процесса, регулируют развитие местного иммунного ответа и контролируют общую реакцию организма на патоген [1, 2].

Цитокины непосредственно участвуют в развитии воспаления, иммунных реакций и регенераторных процессах печени, а повреждение печеночной ткани сопровождается дисбалансом выработки провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, что объясняет большой интерес к изучению цитокинового статуса, особенно в прикладных целях для оценки прогноза течения заболевания и ответа на противовирусную терапию (ПВТ). Следует отметить, что инактивация цитокинов крови происходит в печени, поэтому при ее патологии нарушение этого механизма может также явиться причиной дисбаланса цитокинов и иммунных нарушений [1, 3]. В литературных источниках представлены многочисленные данные об изменении различных цитокинов при ХГС и динамике цитокинового профиля на фоне ПВТ, но эти работы противоречивы. Например, показано, что нарушение структуры печени с развитием в ней некротических и фибротических изменений связано с уровнем продукции провоспалительных цитокинов – интерлейкина-6 (ИЛ-6) и фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α) [4–6]. По некоторым сведениям, содержание ФНО- α значимо увеличено у 83 % пациентов с ХГС независимо от выраженности клинико-биохимических признаков [7]. Интерлейкин-4 (ИЛ-4) – естественный ингибитор воспаления, подавляющий освобождение провоспалительных цитокинов. В периоды активации ХГС количество ИЛ-4 возрастает почти в 3 раза. Причем рост активности цитолиза сопровождается увеличением продукции ИЛ-4, концентрации ряда провоспалительных цитокинов и дисбалансом между различными цитокинами [3]. В других работах встречаются данные о нормальной активности ИЛ-4 у 77 % пациентов [8]. По результатам некоторых исследований, частота гиперпродукции ИЛ-6 составляет 35–37 %, а рост активности цитолиза сопровождается возрастанием содер-

жания ФНО- α и ИЛ-4 [4, 8]. Ряд авторов считают, что критерием эффективности ПВТ, помимо положительной динамики клинических, биохимических и морфологических параметров, является уменьшение исходно высокой концентрации ФНО- α и ИЛ-6 через 6–12 мес терапии при стабильно нормальном содержании ИЛ-4 [4, 8]. Отсутствие единого мнения о направленности и выраженности изменений цитокинов диктует необходимость изучения взаимосвязи ФНО- α , ИЛ-4 и ИЛ-6 с развитием фиброза печени, а также с традиционными показателями мониторинга эффективности ПВТ – вирусемией и маркерами цитолиза на фоне ПВТ.

Цель исследования – оценить динамику концентраций ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-6 и показателей фиброза печени – гиалуроновой кислоты (ГК) и индекса эластичности печени – под влиянием комбинированной ПВТ интерфероном альфа-2b и рибавирином у больных ХГС.

Материалы и методы

Обследование 50 пациентов (22 мужчины и 28 женщин) с ХГС в фазе реактивации проводили на базе инфекционного отделения № 2 Пермской краевой клинической инфекционной больницы. Средний возраст больных составил $36,9 \pm 7,8$ года. Сопоставимая по полу и возрасту контрольная группа включала 30 практически здоровых людей. Все пациенты дали информированное согласие на участие в исследовании.

Протокол анализа одобрен Этическим комитетом Пермской государственной медицинской академии им. акад. Е.А. Вагнера.

Диагноз ХГС был поставлен на основании результатов лабораторного обследования – обнаружении суммарных антител классов G и M к вирусу гепатита С (ВГС) методом иммуноферментного анализа (ИФА) на фотометре «Stat-Fax-2100» с использованием наборов «Бест анти-ВГС» (комплект 2) и «Бест анти-ВГС» (комплект 4) ЗАО «Вектор-Бест», а также обнаружении антител класса M к ВГС с применением набора «Рекомби Бест анти-ВГС-IgM» ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Рибонуклеиновую кислоту (РНК) ВГС выявляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на амплификаторе Real-time «CFX-96» Bio-Rad Laboratories, Inc. (США) с помощью набора «Реал Бест ВГС» ПЦР (комплект 2) ЗАО «Вектор-Бест».

Для выделения РНК ВГС из плазмы крови для последующего анализа методом ПЦР с детекцией в реальном времени применяли набор «Реал Бест Дельта Маг ВГВ/ВГС/ВИЧ» (комплект 2, вариант 2–8). Чувствительность (предел обнаружения) набора «Реал Бест ВГС» ПЦР (комплект 2): в 100 % образцов РНК ВГС обнаруживается в концентрации не менее 15 МЕ/мл при выделении РНК из 1 мл образца (в пробе), что соответствует международным критериям рекомендуемой чувствительности метода [9]. Генотипирование вируса проводили с использованием набора реагентов «Реал Бест РНК ВГС-генотип» для выявления, количественного анализа и дифференциации 1–3-го генотипов РНК ВГС методом обратной транскриптазной ПЦР в режиме реального времени (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск). У 25 (50 %) из 50 больных выявлен 1-й генотип, у 20 (40 %) – 3-й генотип и у 5 (10 %) – 2-й генотип.

Определение уровня аланиновой трансаминазы (АЛТ) и аспарагиновой трансаминазы (АСТ) в сыворотке крови выполняли на автоматическом биохимическом анализаторе «Architect-4000» (США).

В качестве прямого лабораторного маркера фиброза печени у пациентов с ХГС была исследована ГК в сыворотке крови, уровень которой имеет отрицательное прогностическое значение в отношении исключения выраженного фиброза и цирроза печени, по разным данным, в 89–93 и 93–100 % случаев соответственно [10, 11]. Концентрацию ГК в сыворотке крови обследуемых определяли методом ИФА с помощью набора «VCM Diagnostics» (США), который позволяет исключить цирроз печени в 100 % случаев при концентрации $GK \leq 100$ нг/мл [12].

Уровни ФНО- α , ИЛ-4 и ИЛ-6 определяли методом ИФА с использованием соответствующих наборов ЗАО «Вектор-Бест» и планшетного фотометра «Stat-Fax-2100» (США).

Стадию фиброза печени оценивали посредством фиброэластографии (ФЭГ) до и после лечения с измерением индекса эластичности (в кПа) и оценкой стадии фиброза по шкале METAVIR. До настоящего времени нет общепринятых пороговых значений индекса эластичности печени для дифференциации стадий фиброза. Для группы пациентов с ХГС использовали пороговые значения, предлагаемые отечественными гепатологами Ч. С. Павловым, Д. В. Глушенковым и В. Т. Ивашкиным [13]. По шкале METAVIR индекс эластичности печени при ФЭГ $\leq 5,8$ кПа свидетельствует об отсутствии фиброза (стадия F0); 5,8–7,1 кПа соответствует I стадии фиброза (F1); 7,2–9,5 кПа – II стадии (F2); 9,6–12,5 кПа – III стадии (F3); $\geq 12,5$ кПа – цирроз печени (F4).

У 10 пациентов с ХГС в целях уточнения стадии фиброза провели биопсию печени. При этом помимо стандартного описания гистологической картины оценивали индекс фиброза по шкале METAVIR.

В качестве ПВТ 20 больных ХГС получали интерферон альфа-2b внутримышечно через день по 3 млн МЕ в течение 24 нед при 3-м генотипе и 48 нед при 1-м. Всем пациентам с ХГС назначили рибавирин в индивидуально подобранных дозах. Среди больных с ХГС 1-й генотип имели 85 % ($n = 17$), 3-й – 15 % ($n = 3$). Контрольное обследование проводили после окончания ПВТ, через 24 (при 3-м генотипе) и 48 (при 1-м генотипе) нед [9]. Стойкий вирусологический эффект оценивали через 6 мес после завершения ПВТ.

Статистическую обработку данных выполняли с помощью программы Statistica 6.0 (StatSoft). Проверку распределения результатов проводили по критерию Колмогорова–Смирнова. Для описания полученных количественных признаков данные представляли в виде медианы (Me) и 25–75-го перцентиля. Поскольку распределение показателей отклонялось от нормы, для оценки значимости различий независимых групп использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Количественную оценку линейной связи между 2 независимыми величинами осуществляли с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r). Различия между выборками считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При исследовании биохимических показателей у пациентов с ХГС в фазе реактивации были обнаружены нарушения функциональных печеночных проб в виде синдрома цитолиза, который характеризовался увеличением в сыворотке крови активности АЛТ ($p < 0,001$) и АСТ ($p < 0,001$) (табл. 1). В группе больных ХГС повышение содержания ГК в сыворотке крови выявлено у 43 % ($n = 21$), что отражает активацию фиброза на фоне хронического воспаления печени, при этом медиана концентрации ГК в сыворотке крови в 1,8 раза превышает этот показатель в группе контроля ($p = 0,03$). В группе контроля максимальный уровень ГК достигал 63,6 нг/мл, в группе ХГС – 107 нг/мл.

В последние годы активно применяются неинвазивные методы диагностики выраженного фиброза печени. Это связано с вариабельностью (различие до III–IV стадий фиброза), а также с субъективными проблемами, в частности, воспроизводимостью результатов при изучении препаратов разными специалистами составляет 70–80 % [14]. По данным Н.Х. Сафиуллиной, диагностическая эффективность определения ГК довольно высока и имеет при концентрации ≥ 100 нг/мл чувствительность 100 %, специфичность – 84,6 % для разграничения стадии F3 при хроническом гепатите и F4 при циррозе печени [15]. В предыдущих исследованиях мы получили аналогичные результаты по стратификации ХГС и цирроза печени с помощью определения ГК [12].

Таблица 1. Динамика активности трансаминаз, показателей фиброза печени и цитокинов у больных ХГС на фоне ПВТ, Ме (25–75-й перцентили)

Показатель	Контрольная группа	Группа больных до ПВТ	Группа больных в момент окончания ПВТ	p_1	p_2	p_3
АЛТ, Ед/л	15 (12,0–19,1)	58,5 (34–96)	24,6 (15–54)	< 0,001	0,005	0,001
АСТ, Ед/л	20 (18,0–24,4)	34,5 (26–51)	31 (21,4–45,0)	< 0,001	0,33	0,001
ГК, нг/мл	21 (8,0–31,4)	38,7 (16–74)	18,8 (13–37)	0,03	0,009	0,36
ФЭГ, кПа	–	6,5 (5,4–7,8)	5,4 (4,3–6,8)	–	0,04	–
ФНО- α , пг/мл	0,5 (0,5–0,6)	2,9 (1,3–5,7)	2,1 (1,5–2,7)	< 0,001	0,004	0,001
ИЛ-4, пг/мл	1,4 (1,0–1,4)	6,8 (6,3–7,7)	1,9 (1,5–2,0)	< 0,001	< 0,001	0,02
ИЛ-6, пг/мл	0,25 (0,25–0,25)	1,3 (0,4–3,1)	0,8 (0,3–1,8)	0,01	0,04	0,003

Примечание. p_1 – значимость различий в группах контроля и ХГС до ПВТ; p_2 – значимость различий в группах больных ХГС до и после ПВТ; p_3 – значимость различий в группах контроля и ХГС в момент окончания ПВТ.

Другой показатель фиброза печени – индекс эластичности печени – у больных ХГС до начала ПВТ в среднем составил 6,5 кПа. По данным ФЭГ, фиброз отсутствовал (F0) у 29 % пациентов, минимальный и умеренный фиброз (F1–F2) выявлен в 64 % случаев, выраженный фиброз (F3) – в 7 % (табл. 2).

Таблица 2. Стадии фиброза печени по данным ФЭГ на фоне ПВТ

Группа	Стадии фиброза по шкале METAVIR		
	F0 (ФЭГ \leq 5,8 кПа)	F1–2 (ФЭГ 5,8–9,5 кПа)	F3 (ФЭГ 9,6–12,5 кПа)
Больные до ПВТ	29 % (n = 6)	64 % (n = 13)	7 % (n = 1)
Больные после ПВТ	58 % (n = 12)	42 % (n = 8)	0

При обследовании практически здоровых людей уровни интерлейкинов были крайне низкими. Эти данные сопоставимы с результатами А.А. Останина и Е.Р. Черных (2005), полученными методом проточной флуориметрии на двухлучевом лазерном автоматизированном анализаторе (Bio Plex Protein Assay System, BioRad, США) [16]. У здорового человека многокомпонентная система цитокинов как в состоянии относительного покоя *in vivo*, так и в условиях активационных воздействий *ex vivo* характеризуется физиологическим равновесием регуляторных подсистем. Вследствие относительно низкой концентрации цитокинов в системном кровотоке изменения этих показателей могут быть наиболее эффективны в диагностике или мониторинге состояний, связанных с гиперпродукцией цитокинов, однако их информативность недостаточна в ситуациях, сопряженных с дефицитом или изменением баланса регуляторных факторов [17, 18]. Известно, что характер секреции цитокинов во многом зависит от аллельного полимор-

физма кодирующих их генов. Так, наличие различных аллельных вариантов генов показано для ФНО- α , ИЛ-6, а также для многих других цитокинов и их рецепторов [19, 20].

Значения концентрации провоспалительных цитокинов ФНО- α и ИЛ-6 в сыворотке крови в обследуемой группе больных ХГС были значимо больше, чем данные показатели в группе практически здоровых людей. Концентрация ФНО- α была увеличена у 84 % больных ХГС в стадии реактивации ($p = 0,003$), при этом медиана превышала значения контрольной группы в 5,8 раза, что согласуется с другими исследованиями. Несмотря на то, что содержание ИЛ-6 было увеличено у 60 % пациентов ($p = 0,02$), а не во всех случаях, кратность повышения составила 5,2 [7]. В литературе есть сведения об увеличенном локальном уровне содержания ФНО- α в биоптатах печени при ХГС, при этом усиление процесса фиброобразования сопровождается повышением уровня провоспалительного цитокина при нормальной концентрации ИЛ-4 [6]. В нашем исследовании медиана концентрации противовоспалительного ИЛ-4 в 4,9 раза превосходила значение в группе контроля, причем увеличение выработки этого цитокина отмечено у 100 % пациентов ($p < 0,001$) (см. табл. 1). Таким образом, фаза реактивации при ХГС сопровождается повышением выработки как провоспалительных цитокинов ФНО- α и ИЛ-6, так и противовоспалительного ИЛ-4, что указывает на активацию цитокиновой регуляции воспалительного процесса в печени [1, 3].

Уровень вирусной нагрузки (ВН) у 70 % больных был высокий – более 2×10^6 копий/мл, в 30 % случаев – ниже 2×10^6 копий/мл. При этом минимальная вирусная нагрузка составила $0,022 \times 10^6$ копий/мл, максимальная – 8800×10^6 копий/мл.

В момент окончания комбинированной ПВТ у пациентов с ХГС концентрация АЛТ – традиционного теста мониторинга эффективности терапии – снизилась в 2,4 раза ($p = 0,005$), нормализация отмечена

в 75 % случаев, хотя уровень фермента в целом оставался выше, чем в группе контроля ($p = 0,001$). Эффективность ПВТ к моменту завершения лечения у больных ХГС была следующей: непосредственный вирусологический ответ наблюдался в 85 % ($n = 17$) случаев, биохимический ответ – в 75 % ($n = 15$), полный непосредственный ответ (сочетание биохимического и вирусологического) – в 70 % ($n = 14$). Стойкий вирусологический ответ (через 6 мес после ПВТ) диагностирован у 80 % ($n = 16$) пролеченных пациентов. Полученные нами результаты сопоставимы с данными литературы: терапия интерфероном альфа-2b в комбинации с рибавирином приводит к элиминации вируса у 76 % больных с 1-м и 3-м генотипами [21]. У лиц с ХГС на момент окончания ПВТ отмечено уменьшение концентрации ГК в среднем в 2 раза, ее уровень не отличался от уровня в группе контроля, что отражает снижение активности выработки соединительной ткани в печени. Повышенный уровень ГК (85,2 нг/мл) после проведения лечения сохранился только у 1 пациента, но при этом у него отмечался положительный ответ на ПВТ. Охарактеризовать динамику содержания ГК после окончания терапии можно как положительный антифибротический сывороточный ответ, который выявлен у 95 % больных.

По данным ФЭГ, у лиц с ХГС после лечения наблюдалось снижение медианы индекса эластичности печени с 6,55 до 5,4 кПа ($p = 0,04$), что характеризует уменьшение степени фиброза (см. табл. 2). При этом возросло число пациентов без фиброза (F0) с 29 до 58 % за счет уменьшения количества больных с минимальным и умеренным фиброзом (F1–F2). Таким образом, положительная динамика индекса эластичности печени после ПВТ наблюдалась в 95 % случаев.

Мониторинг как провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-6, так и противовоспалительного ИЛ-4 на фоне ПВТ при ХГС показал статистически значимое снижение уровня всех исследуемых показателей (см. табл. 1). Среди больных с повышенными концентрациями цитокинов уровень ФНО- α снизился в среднем в 1,4 раза в 92 % случаев, ИЛ-4 – в 3,6 раза в 100 %, ИЛ-6 – в 1,7 раза в 65 %. Наиболее выраженный ответ на ПВТ продемонстрировал ИЛ-4, который был исходно увеличен у 100 % пациентов. Тем не менее полной нормализации концентраций цитокинов после окончания лечения не наблюдается, так как сохраняются отличия от показателей контрольной группы, что свидетельствует о сохранении активности воспалительного процесса в печени [4].

Результаты проведения корреляционного анализа следующие. При ФЭГ концентрация ГК взаимосвязана с индексом эластичности печени ($p = 0,031$) и морфологическим индексом фиброза по данным биопсии печени ($p = 0,014$) (табл. 3). По данным гистологического исследования показаны статистически значимые взаимосвязи маркеров цитолиза с параметрами фиброза: уровнем ГК, индексом эластичности печени и ин-

Таблица 3. Взаимосвязи исследуемых показателей в группе больных ХГС

Показатель	r	p
АЛТ и АСТ	0,91	< 0,001
АЛТ и индекс фиброза печени	0,47	< 0,001
АСТ и индекс фиброза печени	0,94	< 0,001
АСТ и ФЭГ	0,29	0,007
ГК и АЛТ	0,28	0,003
ГК и АСТ	0,29	0,038
ГК и индекс фиброза печени	0,67	0,014
ГК и ФЭГ	0,27	0,031
ФНО- α и АЛТ	0,23	0,021
ФНО- α и АСТ	0,29	0,003
ФНО- α и ВН	0,58	< 0,001
ФНО- α и ГК	0,27	0,029
ФНО- α и ФЭГ	0,34	0,002
ФНО- α и ИЛ-6	0,53	< 0,001
ИЛ-6 и АСТ	0,23	0,02
ИЛ-6 и ВН	0,26	0,015
ИЛ-6 и ГК	0,24	0,037
ИЛ-6 и ФЭГ	0,25	0,009

Примечание. r – коэффициент взаимосвязи показателей Спирмена; p – достоверность взаимосвязи.

дексом фиброза, что свидетельствует об ассоциации процессов цитолиза и активации фиброгенеза в печени. В патогенезе хронического гепатита некрозы гепатоцитов за счет прямого цитопатического действия вируса, несмотря на слабую иммуногенность, сопровождаются развитием воспалительных проявлений в виде лимфоидной инфильтрации и макрофагальной активации, а также повышенной выработкой соединительной ткани в печени [22]. Таким образом, логично, что тесты цитолиза и фиброза могут коррелировать между собой, так как морфологические изменения в печени запускают вирус, хотя безусловной связи нет, и при нормальном уровне трансаминаз возможна активность воспаления в печени. По данным Т.В. Антоновой и соавт., у больных ХГС при нормальной активности трансаминаз выявлены корреляционные взаимосвязи между индексом гистологической активности и содержанием ФНО- α , тогда как в случаях с выраженным синдромом цитолиза эти связи отсутствуют [7]. Тем не менее трансаминазы остаются маркерами воспаления и фиброза печени, входя в биохимические гепатопанели, в том числе в ФиброМакс [23]. Нами выявлены значимые прямые корреляции концентрации ФНО- α и ИЛ-6 с маркерами цитолиза, ВН, ГК и индексом эластичности печени. По данным некоторых источников, при нормальном содержании сывороточного ИЛ-6 наблюдается медленный темп

прогрессирования фиброза печени, а при повышенных значениях выявляется быстрый темп, что подтверждает взаимосвязь ИЛ-6 с фиброзом [3, 5].

В материалах Всемирной организации здравоохранения по ХГС (2001) констатировали отсутствие корреляций между тестами цитолиза, вирусемией и морфологическим исследованием (воспаление, фиброз) печени, но периодически появляются работы, в которых такая взаимосвязь доказана. S. Justa и соавт. установили, что вирусемия отражает внутрипеченочную ВН, что, в свою очередь, коррелирует с фиброзом печени [24]. L. Fanning и соавт. исследовали с помощью биопсии тканевую ВН в правой и левой долях печени и обнаружили статистически значимую положительную корреляционную связь ВН как между долями, так и с уровнем вируса в крови, в отличие от гистологических показателей активности воспаления и фиброза/цирроза, плохо взаимосвязанных между биоптатами из разных долей печени вследствие неравномерности поражения паренхимы органа. Авторы объясняют это несоответствие вариабельностью данных гистологического исследования [25]. Влияние вирусемии на выраженность воспаления и фиброза при поражении печени может реализоваться также через обусловленную вирусом дисфункцию эндотелия [26]. Это подтверждается статистически значимыми связями между выявленными ранее маркерами фиброза и поражения эндотелия: положительными взаимосвязями ГК с эндотелином-1 и васкулоэндотелиальным фактором роста, которые не только нарушают кровоток в органе, но и стимулируют выработку звездчатыми клетками печени грубой соединительной ткани [27].

Эффективность ПВТ при ХГС обычно оценивают по уровню ВН, а элиминация вируса из крови в перспективе ведет к положительной морфологической динамике, в том числе и уменьшению фиброза, при этом ряд исследователей находили корреляции уровня ВН и гистологической картины поражения печени [28, 29]. Противоречивые сообщения о связи между биохимическими маркерами цитолиза, в частности АЛТ, гистологической степенью воспаления и уровнем РНК ВГС в сыворотке объясняются неоднородностью групп наблюдения по полу, этнической принадлежности, неточно определенной длительностью заболевания, различными генотипами вируса. Некоторые авторы подтверждают значение у лиц с ХГС уровня ВН и повышенной концентрации АЛТ как предикторов тяжести и прогрессирования поражения печени, особенно

при 1-м генотипе [30]. Полученные нами результаты демонстрируют взаимосвязи ФНО- α и ИЛ-6 с тестами цитолиза, фиброза печени и ВН, что доказывает важное значение данных провоспалительных цитокинов в оценке тяжести и прогрессирования поражения печени, а также связь воспалительной активности с уровнем вирусемии.

Таким образом, при положительном ответе на ПВТ значения концентраций ФНО- α , ИЛ-4 и ИЛ-6 продемонстрировали положительную динамику и прямую зависимость с тестами фиброза и цитолиза. При сохранении вирусемии у 3 больных ХГС на момент окончания лечения индекс эластичности печени уменьшился, концентрация ГК в 2 случаях снизилась, в 1 – увеличилась, у 1 больного повысился уровень АЛТ, при этом содержание ИЛ-4 снизилось, а концентрации ФНО- α и ИЛ-6 остались без динамики.

Заключение

У больных ХГС в фазе реактивации выявлено увеличение концентрации провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-6 и противовоспалительного ИЛ-4 в сыворотке крови, что свидетельствует об активации цитокиновой регуляции воспалительного процесса в печени. Активность провоспалительных цитокинов ассоциирована с вирусемией, выраженностью цитолиза гепатоцитов и фиброза печени. Комбинированная ПВТ интерфероном альфа-2b и рибавирином при ХГС сопровождается уменьшением показателей цитолиза, фиброза печени и активности исследованных цитокинов. Непосредственный вирусологический ответ после окончания ПВТ составил 85 %, биохимический – 75 %, полный непосредственный (биохимический и вирусологический) ответ – 70 %, стойкий вирусологический – 80 %. Тесты фиброза печени могут служить предикторами положительного ответа на ПВТ: концентрация ГК и индекс эластичности печени снизились у 95 % больных, что сопровождалось уменьшением стадии фиброза. При положительном вирусологическом ответе на ПВТ уровни ФНО- α , ИЛ-4 и ИЛ-6 также снижались. При отсутствии вирусологического ответа концентрации провоспалительных цитокинов сохранялись на исходном уровне, уменьшался только уровень противовоспалительного цитокина ИЛ-4. Таким образом, мониторинг содержания ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-6 и ГК в крови на момент окончания лечения целесообразен для оценки тяжести поражения печени и прогноза эффективности ПВТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ивашкин В.Т. Иммунная система и повреждение печени при хронических гепатитах В и С. Российский журнал га-

строэнтерологии, гепатологии и колоноскопии 2009;19(6):4–10. [Ivashkin V.T. Immune system and liver lesions at chronic

hepatitis B and C. Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii i kolonoskopii = Russian journal of gastroenterology,

- hepatology and colonoscopy 2009;19(6):4–10. (In Russ.).
2. Железникова Г.Ф. Цитокины как предикторы течения и исхода инфекций. Цитокины и воспаление 2009;1(8):10–7. [Zheleznikova G.F. Cytokines as predictors of the course and outcome of infections. Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and inflammation 2009;1(8):10–7. (In Russ.).]
3. Понежева Ж.Б. Изучение концентрации цитокинов в сыворотке крови больных хроническими вирусными гепатитами В, С, В + С. Успехи современного естествознания 2004;8:61–2. [Ponezheva Zh.B. Study of serum cytokines levels in the patients with chronic viral hepatitis B, C, B + C. Uspekhi sovremennoego estestvoznaniya = Successes of modern natural science 2004;8:61–2. (In Russ.).]
4. Каплина Н.А., Жукова Е.А., Романова С.В. и др. Изменения клинических показателей и цитокинового статуса у детей с хроническими вирусными гепатитами В и С на фоне противовирусной терапии. Цитокины и воспаление 2011;10(3):130–4. [Kaplina N.A., Zhukova E.A., Romanova S.V. et al. Changes in clinical data and cytokine status in children with chronic virus hepatitis B and C at background of antiviral therapy. Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and inflammation 2011;10(3):130–4. (In Russ.).]
5. Коротчаева Ю.В., Самоходская Л.М., Сперанский А.И. и др. Прогностическое значение определения ИЛ-6 в сыворотке крови и цитохрома Р450 в ткани печени у больных хроническим гепатитом С. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии 2008;18(2):42–7. [Korotchaeva Yu.V., Samokhodskaya L.M., Speranskiy A.I. et al. Prognostic value of IL-6 determination in blood serum and cytochrome P-450 in liver tissues in patients with chronic hepatitis C. Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii i kolonoskopii = Russian journal of gastroenterology, hepatology and coloproctology 2008;18(2):42–7. (In Russ.).]
6. Скляр Л.Ф. Цитокиновый профиль и фиброгенез при хроническом вирусном гепатите С. Фундаментальные исследования 2004;1:85. [Sklyar L.F. Cytokine profile and fibrogenesis at chronic viral hepatitis C. Fundamentalnye issledovaniya = Fundamental research 2004;1:85. (In Russ.).]
7. Антонова Т.В., Широнова Н.Л., Гавришева Н.А., Сесь Т.П. Уровень фактора некроза опухолей- α и трансформирующего фактора роста- β в субклинической фазе хронического гепатита С. Медицинская иммунология 2007;9(4–5):499–504. [Antonova T.V., Shironina N.L., Gavrishcheva N.A., Ses T.P. Levels of necrosis factor of a tumors and transforming growth factor beta in subclinical phase of chronic hepatitis C. Meditsinskaya immunologiya = Medical immunology 2007;9(4–5):499–504. (In Russ.).]
8. Николаева Л.И., Петрова Е.В., Макашова В.В., Флоряну А.И. Изменения специфического гуморального иммунитета у пациентов с хроническим гепатитом С при противовирусной терапии. Эпидемиология и вакцинопрофилактика 2005;5:44–9. [Nikolaeva L.I., Petrova E.V., Makashova V.V., Floryanu A.I. Changes in specific antibody mediated immunity in patients with chronic hepatitis C at antiviral therapy. Epidemiologiya i vaksino profilaktika = Epidemiology and vaccinal prevention 2005;5:44–9. (In Russ.).]
9. Абдуллаев С.М., Абдурахманов Д.Т., Авдеев В.Г., Бурневич Э.З. и др. Справочник по гепатологии. Под ред. Н.А. Мухина. М.: Литера, 2009. [Abdullaev S.M., Abdurakhmanov D.T., Avdeev V.G., Burnevich E.Z. et al. Hepatology Handbook. N.A. Mukhin (ed.). Moscow: Litera, 2009. (In Russ.).]
10. Винницкая Е.В., Дроздов В.Н., Юнусова Ю.М. и др. Диагностическая значимость сывороточных маркеров фиброза при хронических заболеваниях печени. Терапевтический архив 2013;85(2):27–31. [Vinnitskaya E.V., Drozdov V.N., Yunusova Yu.M. et al. Diagnostic significance of fibrosis seromarkers at chronic liver diseases. Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic archives 2013;85(2):27–31. (In Russ.).]
11. Halfon P., Bourliere M., Penaranda G. et al. Accuracy of hyaluronic acid level for predicting liver fibrosis stages in patients with hepatitis C virus. Comp Hepatol 2005;4:6.
12. Щёкотова А.П., Булатова И.А., Ройтман А.П. Чувствительность и специфичность определения гиалуроновой кислоты, коэффициента де Ритиса и васкулоэндотелиального фактора роста для диагностики хронического гепатита и цирроза печени. Пермский медицинский журнал 2013;30(4):84–90. [Shchekotova A.P., Bulatova I.A., Roytman A.P. Sensitivity and specificity of hyaluronic acid, de ritis coefficient and vasculoendothelial growth factor determination for diagnosis of chronic hepatitis and hepatic cirrhosis. Permskiy meditsinskiy zhurnal = Perm medical journal 2013;30(4):84–90. (In Russ.).]
13. Павлов Ч.С., Глушенков Д.В., Ивашкин В.Т. Современные возможности эластометрии, фибро- и акти-теста в диагностике фиброза печени. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии 2008;18(4):43–52. [Pavlov Ch.S., Glushenkov D.V., Ivashkin V.T. Modern opportunities of elastometry, fibro and acti tests in diagnostics of liver fibrosis. Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii i kolonoskopii = Russian journal of gastroenterology, hepatology and coloproctology 2008;18(4):43–52. (In Russ.).]
14. Roussele M.C., Michalak S., Dupre F. et al. Sources of variability in histological scoring of chronic viral hepatitis. Hepatology 2005;41(2):257–64.
15. Юшук Н.Д., Знойко О.О., Сафиуллина Н.Х., Келли Е.И. Пункционная биопсия печени и возможности неинвазивного мониторинга фиброза при хроническом вирусном гепатите С. Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии 2002;1:9–16. [Yushchuk N.D., Znoyko O.O., Safiullina N.H., Kelly E.I. Liver needle biopsy and opportunities of fibrosis noninvasive monitoring at chronic viral hepatitis C. Klinicheskie perspektivy gastroenterologii, gepatologii = Clinical prospects of gastroenterology, hepatology 2002;1:9–16. (In Russ.).]
16. Останин А.А., Черных Е.Р. Сравнительная оценка уровня 17 цитокинов в сыворотке и цельной крови здоровых доноров методом проточной флуориметрии. Цитокины и воспаление 2005;4(2):25–32. [Ostanin A.A., Chernykh E.R. Comparative evaluation of level of 17 cytokines in serum and whole blood of healthy donors by the method of flow fluorimetry. Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation. 2005;4(2):25–32. (In Russ.).]
17. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике. Цитокины и воспаление 2003;2(3):20–35. [Demyanov A.V., Kotov A.Yu., Simbirtsev A.S. Diagnostic significance of cytokines levels study in clinical practice. Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation 2003;2(3):20–35. (In Russ.).]
18. Whiteside T.L. Cytokine measurements and interpretation of cytokine assays in human disease. J Clin Immunol 1994;14(6):327–39.
19. Cantagrel A., Navaux F., Loubet-Lescoulié P. et al. Interleukin-1 β , interleukin-1 receptor antagonist, interleukin-4, and interleukin-10 gene polymorphisms: relationship to occurrence and severity of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1999;42(6):1093–100.
20. Mira J.P., Cariou A., Grall F. et al. Association of TNF2, a TNF-alpha promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality: a multicenter study. JAMA 1999;282(6):561–8.
21. Серебряков М.Ю., Воронов А.В., Тищенко М.С. и др. Лайфферон при комбинированном лечении больных хроническим вирусным гепатитом С. Земский врач 2012;5:49–54. [Serebryakov M.Yu., Voronov A.V., Tishchenko M.S. et al. Lifferon for combined therapy of patients with chronic viral hepatitis C. Zemskiy vrach = Zemsky Doctor 2012;5:49–54. (In Russ.).]
22. Соринсон С.Н. Вирусные гепатиты. СПб.: Теза, 1998. [Sorinson S.N. Viral Hepatitis. Saint Petersburg: Teza, 1998. (In Russ.).]

23. Morra R., Munteanu M., Imbert-Bismut F. et al. FibroMAX: towards a new universal biomarker of liver disease? *Expert Rev Mol Diagn* 2007;7(5):481–90.
24. Justa S., Minz R.W., Minz M. et al. Serial measurements of hepatitis C viral load by real-time polymerase chain reaction among recipients of living-donor renal transplants: a short-term follow-up study from a single center. *Transplant Proc* 2010;42(9):3568–73.
25. Fanning L., Loane J., Kenny-Walsh E. et al. Tissue viral load variability in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2001;96(12):3384–9.
26. Wynn A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol* 2008;21(4):199–210.
27. Щекотова А.П. Взаимосвязь маркеров эндотелиальной дисфункции и фиброза печени с вирусной нагрузкой при хроническом вирусном гепатите С. *Современные проблемы науки и образования (электронный журнал)* 2012;1. [Shchekotova A. P. Interrelation between the marker of endothelial dysfunction and liver fibrosis with viral load at chronic viral hepatitis C. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern problems of science and education (electronic journal)* 2012;1. (In Russ.)].
28. Karino Y., Toyota J., Sugawara M. et al. Hepatitis C virus genotypes and hepatic fibrosis regulate 24-h decline of serum hepatitis C virus RNA during interferon therapy in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol* 2003;18(4):404–10.
29. Adinolfi L.E., Utili R., Andreana A. et al. Serum HCV RNA levels correlate with histological liver damage and concur with steatosis in progression of chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 2001;46(8):1677–83.
30. Heller T., Seeff L.B. Viral load as a predictor of progression of chronic hepatitis C? *Hepatology* 2005;42(6):1261–3.