

УДК 616.36-002.12-036.12-074/-078

DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.3465933>Ю.И. Бажора<sup>1</sup>, Е.Н. Усыченко<sup>1</sup>, Е.М. Усыченко<sup>1</sup>, В.А. Гудзь<sup>1</sup>, В.А. Мозговая<sup>2</sup>

## АНАЛИЗ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПА ВИРУСА

<sup>1</sup>Одесский национальный медицинский университет;<sup>2</sup>КП «Одесская городская клиническая инфекционная больница»

**Summary.** Bazhora Yu. I., Usychenko K. M., Usychenko O. M., Gudz V. A., Mozgova V. A. **THE ANALYSIS OF IMMUNOLOGICAL AND BIOCHEMICAL INDICES IN CHRONIC HEPATITIS C PATIENTS DEPENDING ON THE VIRUS' GENOTYPE.** - *Odessa National Medical University, Ukraine; e-mail: [usichenko2006@gmail.com](mailto:usichenko2006@gmail.com).* The pathogenic features of chronic hepatitis C are determined by interaction of two main factors: human body's characteristics and the structure of HCV (pathogen). The body's features include the nature of the immune response. There is an interrelation between HCV genotypes, the nature of the immune response, and progression of liver fibrosis. However, studies on the immunological indices, cytokine profile depending on the genotype are few. The objective: to analyze the immunological and biochemical indices in the patients with chronic hepatitis C (CHC), depending on the viral genotype. Materials and methods. There were examined 100 patients with chronic hepatitis, aged 18 -62 y.o., were examined. All patients were evaluated traditional biochemical indices. In order to confirm the diagnosis the PCR, qualitative and quantitative determination of viral RNA and the genotype of the hepatitis C virus was carried out in all patients. Results. To assess the interrelation between nonparametric (hepatitis C virus genotype) and parametric (biochemical and immunological indices) data, a Spearman rank correlation coefficient was used. The following regularities were revealed: • a weak positive (direct) association between the virus genotype and the percentage of CD3 +, CD4 + and CD16 + (in patients with chronic hepatitis C caused by genotypes 1a and 1b, fewer amount of CD3 +, CD4 + and CD16 + was observed than in patients with chronic hepatitis C caused by 2 and 3 genotypes); • a weak negative (inverse) interrelation between the virus genotype and the percentage of CD8 + and CD19 + (patients with chronic hepatitis C caused by genotypes 1a and 1b have a higher number of CD8 + and CD19 + than patients with chronic hepatitis C caused by 2 and 3 genotypes); • moderate negative (inverse) interrelation between the virus genotype and the activity of ALT and AST (in the patients with chronic hepatitis C caused by genotypes 1a and 1b, transaminase activity is higher than in the patients with chronic hepatitis C caused by 2 and 3 genotypes). Conclusion. As a result of the pilot studies, it can be assumed that the genotype of virus 1a and 1b causes more pronounced changes in biochemical indices and immunological status indices than the virus of its third genotype. Perhaps the genotype of the virus affects the rate of progression of fibrosis, which will be the subject of our further research.

**Key words:** immunological and biochemical indices, chronic hepatitis C, genotype of virus.

**Реферат.** Бажора Ю. И., Усыченко Е. Н., Усыченко Е. М., Гудзь В. А., Мозговая В. А. **АНАЛИЗ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПА ВИРУСА.** В статье представлены исследования биохимических, генетических и иммунологических показателей у 100 больных хроническим гепатитом С, проживающих в Одесском регионе.

Проведен корреляционный анализ между этими показателями и генотипом вируса с целью выявления возможных маркеров тяжести течения заболевания.

**Ключевые слова:** хронический гепатит С, генотип вируса, степень тяжести заболевания, клеточный иммунитет, биохимические показатели.

**Реферат.** Бажора Ю. І., Усиченко Е. Н., Усиченко Е. М., Гудзь В. А., Мозгова В. А. **АНАЛІЗ ІМУНОЛОГІЧНИХ І БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ГЕНОТИПУ ВІРУСУ.** У статті представлені дослідження біохімічних, генетичних та імунологічних показників у 100 хворих на хронічний гепатит С, які проживають в Одеському регіоні. Проведений кореляційний аналіз між цими показниками та генотипом вірусу з метою виявлення можливих маркерів тяжкості перебігу захворювання.

**Ключові слова:** хронічний гепатит С, генотип вірусу, ступінь тяжкості захворювання, клітинний імунітет, біохімічні показники.

**Введение.** HCV – инфекция является одной из главных причин хронических заболеваний печени, развития цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы [1, 2]. По данным ВОЗ в мире ежегодно инфицируется 3-4 млн человек, у 200 млн пациентов наблюдается хроническая форма болезни. В Украине инфицировано HCV-инфекцией около 1 млн человек [3, 4]. По мнению многих исследователей патогенетические особенности хронического гепатита С определяются взаимодействием двух основных факторов: особенностей организма человека и структурой HCV (патоген). К особенностям организма относится характер иммунного ответа [5, 6]. Основой иммунологических реакций при ХГС является нарушение баланса Th1\Th2 со смещением в сторону субпопуляции Th2, а также изменение цитокиновой регуляции [7, 8].

Известно несколько механизмов подавляющего влияния HCV на звенья иммунного ответа: изменение функциональной активности цитотоксических лимфоцитов, мутации генома HCV, прямое действие белков HCV на Т-клетки и другое [5, 9]. Исходы HCV-инфекции во многом зависят от характера иммунного ответа. В иммунопатогенезе ХГС установлена и роль отдельных клеток иммунной системы. Так показательно, что популяция НК-клеток имеет ведущее значение в хронизации гепатитов вирусной этиологии и в развитии фиброза печени [10, 11].

Одной из основных характеристик HCV является его генотип. На основании различных нуклеотидных последовательностей геномной РНК выделяют 6 генотипов, а по некоторым данным 7-11 генотипов и около 100 субтипов [12, 13, 14].

В Украине преобладают генотипы 1в и 3а, в течении ряда лет роль различных гепатитов HCV рассматривалась при оценке эффективности противовирусной терапии. Показано, что достижение стойкого вирусологического ответа зависит от генотипа HCV, стадии фиброза печени, исходного уровня вирусной нагрузки [15, 16].

Однако, исследования последних лет показали, что ХГС, вызванный вирусом 3 генотипа, имеет целый ряд патогенетических особенностей. Установлено, что скорость прогрессирования фиброза у больных с HCV 3 генотипа достоверно выше, чем у инфицированных 1, 2 и 4 генотипов. Это обусловлено, вероятно, большей продукцией провоспалительных цитокинов у больных с ХГС 2 генотипа [17].

По данным ряда авторов, сочетание стеатоза печени, индуцированное вирусом HCV 3 генотипа с характерной высокой вирусной нагрузкой оказывает влияние на течение заболевания и снижает эффективность противовирусной терапии [18, 19].

Таким образом, имеет взаимосвязь между генотипами HCV, характером иммунного ответа, прогрессированием фиброза печени. Однако, исследования по изучению иммунологических показателей, цитокинового профиля в зависимости от генотипа немногочисленны.

**Цель работы:** проанализировать иммунологические и биохимические показатели у больных хроническим гепатитом С (ХГС) в зависимости от генотипа вируса.

**Материалы и методы.** Обследованы 100 пациентов с хроническим гепатитом в возрасте 18-62 года. Все обследованные пациенты, включенные в исследование, наблюдаются в гепатологическом центре КП «Одесская городская клиническая

инфекционная больница». Количество обследованных женщин и мужчин было практически одинаковым, 56 и 44 человека, соответственно.

Группа контроля включала 30 практически здоровых лиц среднего возраста. Количество мужчин и женщин было одинаковым (15 человек).

У всех больных оценивались такие биохимические показатели, как концентрация общего билирубина и его фракции, активность АлАт и АсАт, концентрация общего белка, альбумина и глобулина, протромбиновый индекс, ЦФ.

С целью подтверждения диагноза у всех больных проводилось качественное и количественное определение вирусной РНК методом полимеразной цепной реакции. Также методом полимеразной цепной реакции производилось определение генотипа вируса гепатита С (1 (1a и 1b), 2, 3 (3a 3b), 4, 5, 6).

Субпопуляции В и Т лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD19+), определялись иммунофлюоресцентным методом с использованием набора поликлональных и моноклональных антител для установления дифференциальных антигенов лимфоцитов человека с использованием иммунофлюоресцентного микроскопа «Евростар».

Взаимосвязь генотипа вируса гепатита С и биохимические показатели, а также субпопуляционный состав периферической крови оценивали с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Сравнение биохимических и иммунологических показателей у здоровых и больных лиц проводили с применением критерия Манна-Уитни.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты исследования биохимических и иммунологических показателей у больных хроническим гепатитом С описаны в наших предыдущих работах [19].

Распределение больных хроническим гепатитом С в зависимости от генотипа представлено на рисунке 1.

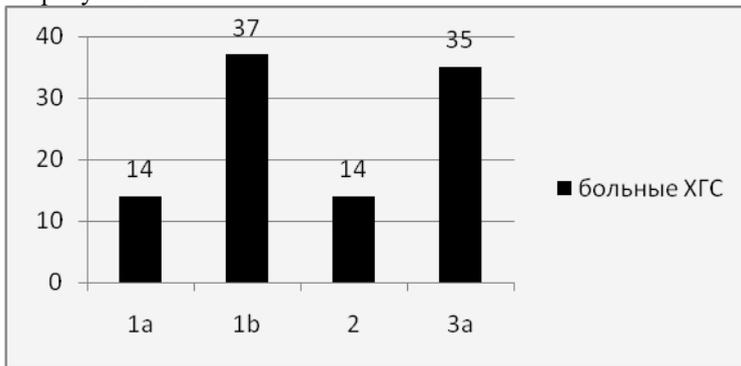


Рис. 1. Распределение пациентов в зависимости от генотипа вируса гепатита С

В группе больных хроническим гепатитом С преобладали пациенты с генотипом 1b и 3a, количество больных с генотипами 1b и 2 было равным.

Анализ биохимических показателей у пациентов с ХГС с разными генотипами представлен в таблице 1.

Таблица 1.

Биохимические показатели у пациентов с ХГС в зависимости от генотипа вируса (M±m).

Показатели	пациенты ХГС, генотип 1a и 1b, n=51	пациенты ХГС, генотип 2 и 3a, n=49
Общий билирубин, мкмоль/л	20,1±0,4	21±0,1
АлАт, ммоль/ л	1,56±0,13*	0,89±0,21*
АсАт, ммоль/ л	1,71±0,15*	1,04±0,19*
Индекс де Ритиса	0,93±0,08*	0,76±0,07*
Тимоловая проба, единицы	6,8±0,1*	5,2±0,1*
Общий белок, г/л	72,2±0,1	75,3±0,2
Альбумины, г/л	42,51±0,31	42,83±0,42
Глобулины, г/л	29,47±0,12	31,22±0,18
Протромбиновый индекс	97,07±0,02	97,04±0,31

\* – разница показателей в группах сравнения статистически достоверна (P<0,05)

В группе пациентов с хроническим гепатитом С, вызванным генотипами 1а и 1b, отмечались более выраженные изменения биохимических показателей, чем в группе пациентов с ХГС, вызванным вирусами 2-ого и 3-его генотипа.

Анализ некоторых иммунологических показателей у пациентов с ХГС с разными генотипами представлен в таблице 2.

Таблица 2.

Иммунологические показатели у пациентов с ХГС в зависимости от генотипа вируса (M±m)

Показатели	Контрольная группа, n = 30	пациенты ХГС, генотип 1а и 1b, n=51	пациенты ХГС, генотип 2 и 3а, n=49
CD3+, %	71,81±4,50	30,13±3,27*	34,58±3,45*
CD4+, %	41,22±4,92	26,34±2,87*	29,65±2,63*
CD8+, %	20,51±4,04	25,42±2,94	22,63±2,57
CD16+, %	14,14±3,48	6,94±1,14*	8,85±1,09*
CD19+, %	10,83±3,12	16,26±2,07*	14,19±2,12*

\* – разница показателей статистически достоверна в сравнении с контрольной группой (P<0,05)

В группе пациентов с хроническим гепатитом С, вызванным генотипами 1а и 1b, отмечались более выраженные изменения клеточного иммунитета, чем в группе пациентов с ХГС, вызванным вирусами 2-ого и 3-его генотипа.

Для оценки взаимосвязи непараметрических (генотип вируса гепатита С) и параметрических (биохимические и иммунологические показатели) данных был применен коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Выявлены такие закономерности:

- слабая положительная (прямая) связь между генотипом вируса и процентным содержанием CD3+, CD4+ и CD16+ (у пациентов с ХГС, вызванным генотипами 1а и 1b, отмечается меньшее количество CD3+, CD4+ и CD16+, чем у пациентов с ХГС, вызванным 2 и 3 генотипом);

- слабая отрицательная (обратная) связь между генотипом вируса и процентным содержанием CD8+ и CD19+ (у пациентов с ХГС, вызванным генотипами 1а и 1b, отмечается большее количество CD8+ и CD19+, чем у пациентов с ХГС, вызванным 2 и 3 генотипом);

- умеренная отрицательная (обратная) связь между генотипом вируса и активностью АлАт и АсАт (у пациентов с ХГС, вызванным генотипами 1а и 1b, отмечается более высокая активность трансаминаз, чем у пациентов с ХГС, вызванным 2 и 3 генотипом).

#### **Выводы:**

В результате проведенных пилотных исследований можно предположить, что генотип вируса 1а и 1b вызывает более выраженные изменения биохимических показателей и показателей иммунологического статуса, чем вирус 3-го генотипа.

Возможно, генотип вируса оказывает влияние на скорость прогрессирования фиброза, что будет предметом наших дальнейших исследований.

#### **Литература:**

1. Хронический гепатит С как проблема здравоохранения сегодня и завтра / Чуланов В.П., Пименов Н.Н., Мамонова Н.А. [и др.] // Терапевтический архив. – 2015. - № 11. – С. 5-10.
2. Кучерявый Ю.А. Хронический гепатит, цирроз печени и гепатоцеллюлярная карцинома – звенья одной цепи / Ю.А. Кучерявый, Н.Ю. Стукова, М.Л. Ахтаева // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2012. – № 5. – С. 3-11.
3. Prevention and control of viral hepatitis infection on: Framework for global action // WHO. – 2012.
4. Вивчення сучасної молекулярно-генетичної характеристики гепатиту С на території Північно-Західного регіону України / Хоронжевська І.С., Мартинюк Г.А., Шевченко Г.М. [та ін.] // Гепатологія. – 2013. – №2. – С. 40-52.
5. Ивашкин В.Т. Иммуная система и повреждения печени при хроническим гепатитах В и С / В.Т. Ивашкин // РЖГТК. – 2009. - №6. – С. 4-10.

6. Анализ влияния генетических факторов вируса гепатита С и полиморфизма генов инфицированных людей на развитие фиброза печени / Николаева Л.И., Колотвин А.В., Самоходская Л.М. [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2012. - № 5. – С. 7-13.
7. Bode J.G. Hepatitis C virus (HCV) employs multiply strategies to subvert the host innate antiviral response / Bode J.G., Brenndorfer E., Haussinger D. // Journal Biological Chemistry. – 2008. – Vol. 389. - №10. – P.1283-1298.
8. Особенности цитокинового профиля и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у больных хроническими вирусными гепатитами В и С в сопоставлении с выраженностью морфологических изменений печени / А.С. Лазарева, Е.В. Волчкова, К.Т. Умбетова [и др.] // Терапевтический архив. – 2009. - №4. – С. 55-60.
9. Гололобова О.В. Особенности иммунорегуляции у пациентов с HCV инфекцией // Международный медицинский журнал. – 2015. - №3. – С. 81-87.
10. Характеристика регуляторно-рецепторного аппарата естественных киллеров у клинически здоровых людей / И.П. Балмасова, О.Ф. Еремина, Е.В. Шмелева [и др.] // Аллергология и иммунология. – 2009. – Т. 10, № 2. – С. 169.
11. ЕКТ на разных стадиях фиброза печени у больных с хроническим гепатитом С / Малова Е.С., Балмасова И.П., Шмелева Е.В. [и др.] // Международный журнал по иммунореабилитации. – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 127.
12. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: update criteria and genotype assignment WEB resource / Smith D.V., Burk J., Kuiken C. [et al.] // Hepatology. – 2014. – Vol. 59 (1). – P.318-327.
13. Global distribution and prevalence of hepatic C virus genotypes / Messina J.P., Humphreys I., Flaxman A. [et al.] // Hepatology. – 2015. – Vol. 6 (1). – P.77-87.
14. Зайцев И.А. Прогнозирование результатов противовирусной терапии больных хроническим вирусным гепатитом С / Зайцев И.А. // Гепатология. – 2013. – №2. – С. 4-13.
15. Прогноз ефективності і тактичний вибір противірусної терапії у хворих на хронічний гепатит С / Козько В.М., Бондар А.Є., Соломенник Г.О. [та ін.] // Інфекційні хвороби. – 2015. – №2. – С. 17-20.
16. Genotype 3 is associated with accelerated fibrosis progression in chronic hepatitis / Bochud P.Y., Cai T., Overbeck K. [et al.] // J. Hepatology. – 2009. – Vol. 51 (4). – P.655-666.
17. Steatosis is an independent predictor of relapse following rapid virologic response in patients with HCV genotype 3 / Shan S.R., Patel K., Marcellin P. [et al.] // Clinical Gastroenterology and Hepatology. – 2011. – Vol. 9. – P.688-693.
18. Вирус гепатит С 3-его генотипа: такой «простой», такой «сложный» / С.Н. Бацких, С.В. Морозов, В.П. Чуланов, В.И. Покровский // Терапевтический архив. – 2012. - № 11. – С.4-10.
19. Усыченко Е.Н. Анализ ассоциации полиморфизма генов цитокинов IL-4, IL-10 И TNF с биохимическими и иммунологическими показателями у больных ХГС Усыченко Е.Н., Усыченко Е.М., Бажора Ю.И. // Проблемы військової охорони здоров'я: збірник наукових праць Української військово-медичної академії. – К.: «МП Леся», 2017. – Вип. 49. – Т. 1. – С. 151-158.

**References:**

1. Hronicheskiy gepatit S kak problema zdavoohraneniya segodnya i zavtra / Chulanov V.P., Pimenov N.N., Mamonova N.A. [i dr.] // Terapevticheskiy arhiv. – 2015. - # 11. – S. 5-10.
2. Kucheryavyy Yu.A. Hronicheskiy gepatit, tsirroz pecheni i gepatotsellyulyarnaya kartsinoma – zvenya odnoy tsepi / Yu.A. Kucheryavyy, N.Yu. Stukova, M.L. Ahtaeva // Klinicheskie perspektivy gastroenterologii, gepatologii. – 2012. – # 5. – S. 3-11.
3. Prevention and control of viral hepatitis infection on: Framework for global action // WHO. – 2012.
4. Vivchennya suchasnoYi molekulyarno-genetichnoYi charakteristiki gepatitu S na territoriyi Pivnichno-Zahidnogo regionu Ukraini / Horonzhevska I.S., Martinyuk G.A., Shevchenko G.M. [ta In.] // Gepatologiya. – 2013. – #2. – S. 40-52.

5. Ivashkin V.T. Immunnaya sistema i povrezhdeniya pecheni pri hronicheskim gepatitah V i S / V.T. Ivashkin // RZhGGK. – 2009. - #6. – S. 4-10.
6. Analiz vliyaniya geneticheskikh faktorov virusa gepatita S i polimorfizma genov infitsirovannykh lyudey na razvitiye fibroza pecheni / Nikolaeva L.I., Kolotvin A.V., Samohodskaya L.M. [i dr.] // Epidemiologiya i infektsionnyye bolezni. – 2012. - # 5. – S. 7-13.
7. Bode J.G. Hepatitis C virus (HCV) employs multiply strategies to subvert the host innate antiviral response / Bode J.G., Brenndorfer E., Haussinger D. // Journal Biological Chemistry. – 2008. – Vol. 389. - #10. – P.1283-1298.
8. Osobennosti tsitokinovogo profilya i subpopulyatsionnogo sostava limfotsitov perifericheskoy krovi u bolnykh hronicheskimy virusnyimi gepatitami V i S v sopostavlenii s vyrazhennostyu morfologicheskikh izmeneniy pecheni / A.S. Lazareva, E.V. Volchkova, K.T. Umbetova [i dr.] // Terapevticheskiy arhiv. – 2009. - #4. – S. 55-60.
9. Gololobova O.V. Osobennosti immunoregulyatsii u patsientov s HCV infektsiey // Mezhdunarodnyiy meditsinskiy zhurnal. – 2015. - #3. – S. 81-87.
10. Harakteristika regulyatorno-retseptornogo apparata estestvennykh killerov u klinicheski zdorovykh lyudey / I.P. Balmasova, O.F. Eremina, E.V. Shmeleva [i dr.] // Allergologiya i immunologiya. – 2009. – T. 10, # 2. – S. 169.
11. EKT na raznykh stadiyakh fibroza pecheni u bolnykh s hronicheskim gepatitom S / Malova E.S., Balmasova I.P., Shmeleva E.V. [i dr.] // Mezhdunarodnyiy zhurnal po immunoreabilitatsii. – 2010. – T. 12, # 2. – S. 127.
12. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: update criteria and genotype assignment WEB resource / Smith D.V., Burk J., Kuiken C. [et al.] // Hepatology. – 2014. – Vol. 59 (1). – P.318-327.
13. Global distribution and prevalence of hepatic C virus genotypes / Messina J.P., Humphereys I., Flaxman A. [et al.] // Hepatology. – 2015. – Vol. 6 (1). – P.77-87.
14. Zaytsev I.A. Prognozirovaniye rezultatov protivovirusnoy terapii bolnykh hronicheskim virusnym gepatitom S / Zaytsev I.A. // Gepatologiya. – 2013. – #2. – S. 4-13.
15. Prognoz effektivnosti I taktichniy viBr protivirusnoYi terapiYi u hvorih na hronichniy gepatit S / Kozko V.M., Bondar A.E., Solomennik G.O. [ta In.] // Infektsiyni hvorobi. – 2015. – #2. – S. 17-20.
16. Genotype 3 is associated with accelerated fibrosis progression in chronic hepatitis / Bochud P.Y., Cai T., Overbeck K. [et al.] // J. Hepatology. – 2009. – Vol. 51 (4). – P.655-666.
17. Steatosis is an independent predictor of relapse following rapid virologic response in patients with HCV genotype 3 / Shan S.R., Patel K., Marcellin P. [et al.] // Clinical Gastroenterology and Hepatology. – 2011. – Vol. 9. – P.688-693.
18. Virus gepatit S 3-ego genotipa: takoy «prostoy», takoy «slozhniy» / S.N. Batskih, S.V. Morozov, V.P. Chulanov, V.I. Pokrovskiy // Terapevticheskiy arhiv. – 2012. - # 11. – S.4-10.
19. Usyichenko E.N. Analiz assotsiatsii polimorfizma genov tsitokinov IL-4, IL-10 I TNF s biohimicheskimi i immunologicheskimi pokazatelyami u bolnykh HGS Usyichenko E.N., Usyichenko E.M., Bazhora Yu.I. // Problemi vlyskovoYi ohoroni zdorov'ya: zbirnik naukovih prats UkraYinskoYi vlyskovo-medichnoYi akademiyi. – K.: «MP Lesya», 2017. – Vip. 49. – T. 1. – S. 151-158.

Робота надійшла в редакцію 30.08.2019 року.  
Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування