

КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ ДЕЛЬТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РЕПЛИКАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ HBV- И HDV-ИНФЕКЦИЙ

Суранбаева Г.С.¹, Анарбаева Ж.А.², Ташполотова А.Ш.³, Омурзакова К.С.¹, Мурзакулова А.Б.⁴, Максытов С.Т.⁵

¹Научно-производственное объединение «Профилактическая медицина» МЗ КР, Бишкек;

²Территориальная больница г. Кызыл-Кия, Кызыл-Кия, e-mail: gul1967@inbox.ru;

³Жалал-Абадская областная клиническая больница, Жалал-Абад;

⁴Ошская межобластная объединенная клиническая больница, Ош;

⁵Центр общеврачебной практики Папан, Бишкек

В работе приведены результаты клинических исследований хронического гепатита дельта, зависящего от репликативной активности совместно присутствующих HBV- и HDV-инфекций. Клинические симптомы и биохимические изменения были более выраженными у больных с активной репликацией вируса D. Первые проявления болезни соответствовали жалобам больных на быструю утомляемость, ухудшение общего самочувствия, слабость, головные боли, снижение толерантности к обычным физическим нагрузкам, эмоциональную неустойчивость. В динамике течения отчетливо прослеживалась гипералатемия. У больных ХВГД, с минимальной активностью HBV и высокой репликативной активностью HDV-инфекции, был существенно низким уровень альбуминов и повышен уровень гамма-глобулинов, по сравнению со второй группой, составив, в среднем $30,2 \pm 8,3$, $32,1 \pm 7,8$; $42,0 \pm 3,5$, $32,1 \pm 7,8$, соответственно ($P < 0,05$). Проявление и прогрессирование этих симптомов соответствовали постепенному развитию печеночной интоксикации. Иммунологические тесты могут явиться дополнительным критерием при дифференциальной диагностике хронического гепатита дельта, особенно у больных с различными вирусными нагрузками, при прогнозе их течения. В случае с высокой репликативной активностью HDV-инфекции наблюдаются более выраженные сдвиги в состоянии клеточного иммунитета, выражающиеся в супрессии отдельных субпопуляций лимфоцитов, лишь в некоторой степени затрагивающие гуморальное звено иммунитета.

Ключевые слова: хронический вирусный гепатит дельта (ХВГД), хронический вирусный гепатит В (ХВГВ), клиника, иммунология, вирусная нагрузка, биохимия, цирроз печени, асцит.

CLINICAL CHARACTERIZATION OF PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS DELTA VIRUS INFECTION WITH REGARD TO REPLICATIVE ACTIVITY OF HBV AND HDV INFECTION

Suranbaeva G.S.¹, Anarbaeva J.A.², Tashpolotova A.Sh.³, Omurzakova K.S.¹, Murzakulova A.B.⁴, Maksytov S.T.⁵

¹Scientific and Production Centre for Preventive Medicine, Bishkek;

²Territorial Hospital, Kyzyl Kiya, e-mail: gul1967@inbox.ru;

³Jalal-Abad Regional Clinical Hospital, Jalal-Abad;

⁴Osh Inter-regional Amalgamated Clinical Hospital, Osh;

⁵Papan General Physician Practice Centre, Bishkek

The paper presents results of clinical studies of chronic hepatitis delta virus infection regarding replicative activity of the combined presence of HBV and HDV infection. Clinical symptoms and biochemical changes were more pronounced in patients with active HDV replication. The first signs of disease consisted in such patients' complaints as rapid fatigability, feeling ill, weakness, headaches, decreased tolerance to usual daily exercise, emotional lability. Development of hyperalatemias was typically seen in the course of the disease. In patients with chronic HDV infection who had minimal HBV activity and high HDV replication activity, albumin levels were significantly decreased and gamma-globulin levels were significantly increased as compared to the second group, with average levels being $30,2 \pm 8,3$, $32,1 \pm 7,8$; $42,0 \pm 3,5$, $32,1 \pm 7,8$, respectively ($P < 0,05$). The manifestations and progression of these symptoms corresponded to the gradual development of hepatic intoxication. Immunological tests can be an additional criterion in differential diagnosis of chronic hepatitis delta, especially in patients with different viral loads, for prognostication of the disease course. In the case of high HDV replicativity there are observed more pronounced changes in cellular immunity, namely, suppression of some lymphocyte subpopulations while humoral immunity shows only small changes.

Keywords: chronic hepatitis delta virus infection, chronic hepatitis B infection, clinical features, immunology, viral

load, biochemical tests, hepatic cirrhosis, ascites.

Актуальность проблемы. Внедрение в клиническую практику молекулярно-диагностических методов исследований позволило получить о вирусе гепатита D новейшую информацию. В последнее время, благодаря широкому применению метода полимеразной цепной реакции (ПЦР), появилась возможность качественного и количественного определения ДНК при HBV- и РНК при HDV-инфекциях, исследование которых позволило уточнить механизмы взаимодействия этих вирусов в развитии хронических гепатитов и циррозов печени. Нередко, возможно одновременное обнаружение в организме больного сразу обоих вирусов. В этих случаях возникают ситуации взаимного ингибирования двух геномов вирусов, приводящие иногда к полному исчезновению обоих вирусов [1], либо к доминированию РНК HDV над ДНК HBV-инфекцией. Как полагают, это связано феноменом вирусной «интерференции» [1,2].

Особенностью хронического гепатита дельта является его преимущественная циррозогенность [3, 4]. При хроническом ГД, по сравнению с хроническими сывороточными гепатитами иной этиологии, цирроз печени развивается не только чаще, но и в более ранние сроки. Больные HDV-циррозом печени заболевают в среднем на 10–15 лет ранее больных циррозом, развившимся в результате хронической HBV-инфекции. Трансформация хронического активного гепатита в хронический персистирующий гепатит, при ХВГД регистрируется реже, что свидетельствует об относительно меньшей частоте проявления субклинических и инапарантных форм при ХВГД. Несмотря на достаточно большое количество научных исследований по изучению механизма развития патологического процесса при HDV-инфекции, информация о клинико-биохимических и иммунологических особенностях протекания болезни весьма ограничена, что и побудило нас изучить данную проблему [5, 6].

Целью данного исследования явилось изучение клинико-биохимических и иммунологических особенностей хронического вирусного гепатита дельта при наличии и в зависимости от репликативной активности HBV и HDV, при их совместном присутствии.

Материалы и методы исследования

Под нашим наблюдением находилось 218 больных хроническим вирусным гепатитом D (ХВГД). Из них – 186 пациентов (первая группа) были с высокой репликативной активностью HDV ($>10^5$ копий/мл ($2 \cdot 10^4$ МЕ/мл), но низкой HBV-инфекцией (200 копий/мл = 90 МЕ/мл). А у второй группы (32 больных) имела место низкая репликативная активность HDV-инфекции и высокая HBV. Среди обеих групп больных преобладала доля женщин. Возраст больных составлял интервал 14–65 лет. Выявлено, что заболеванию ХВГД,

в большей степени, подвержены люди в возрасте 40–49 лет. Клинико-биохимическое обследование больных проводили по общепринятой методике с помощью специально разработанной тематической карты. Настоящая работа была выполнена в инфекционных отделениях Кызыл-Кийской городской больницы Баткенской области, Ошской областной объединенной больницы, Жалалабатской городской больницы, в референс-лаборатории вирусных инфекций НПО «Профилактическая медицина», в иммунологической лаборатории Республиканского диагностического центра и в гастроэнтерологическом отделении Национального госпиталя.

При клиническом обследовании больных были учтены следующие характерные признаки: наличие боли в правом подреберье, диспепсические нарушения, слабость, желтуха, кожный зуд, анорексия, гепатомегалия, спленомегалия, артралгии, вздутие живота, асцит, кровоточивость из носа, сосудистые «звездочки», пальмарная эритема.

При биохимическом исследовании крови определялись уровень общего билирубина по методу Иендрашика, активность АЛТ и АСТ по методу Френкеля-Райтмана. При определении уровня тимоловой и сулемовой проб были применены коллоидоустойчивые пробы. Общий белок и белковые фракции анализировались биуретовым и экспресс-методами.

Лабораторная расшифровка этиологического фактора вирусов при хронических вирусных гепатитах проводилась с использованием серологических методов в Республиканской референс-лаборатории по диагностике вирусных инфекций (НПО «Профилактическая медицина») и в частных лабораториях г. Бишкек «Интермедикал» и «HUMAN». Также сыворотка крови пациентов исследовали методом иммуноферментного анализа (ИФА) на присутствие маркеров вирусных гепатитов ГА (анти-HAV-IgM), ГВ (HBsAgHBe-IgMIgG, HBeAg), ГД (HDV-IgM, HDV-IgG), ГС (HCVIg(total). Количественное определение ДНК ГВ и РНК ГД в сыворотке крови производилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в частных лабораториях г. Бишкек «Интермедикал» и «HUMAN».

Для оценки состояния клеточного звена иммунитета использовались: методика определения флюоресценции (J.Fenar 1998), радиобиологические методы исследования, на установке «Бета-2», примененные для измерения активности лимфоцитов, с включением метки Н-гистамина в синтезируемую ДНК. Произведены подсчет абсолютного и относительного содержания моноцитов. Рассчитаны фагоцитарный показатель (ФП) и фагоцитарное число (ФЧ), интегральный фагоцитарный индекс (ИФИ), по методу Н.В. Соколова. Фагоцитарная характеристика нейтрофильных гранулоцитов с подсчетом фагоцитарного показателя и фагоцитарного числа определялась по отношению к частицам латекса. При этом у всех больных показатели иммунного статуса изучались до и после

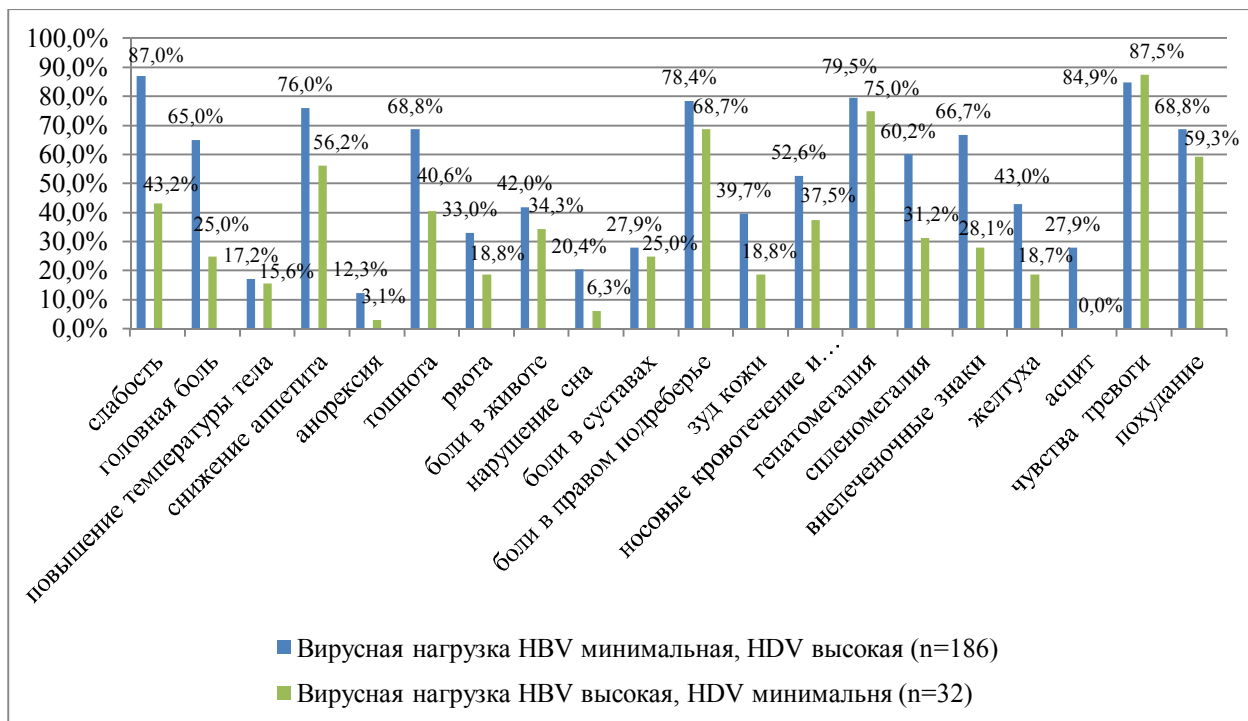
лечения. В комплекс иммунологических методов исследования входили также тесты I и II уровней. С помощью реакции розеткообразования определялись абсолютное и относительное содержание Т-лимфоцитов Е-РОК, В-лимфоцитов (М-РОК) и регуляторных субпопуляций Т-клеток по чувствительности Е-рецепторов к теофиллину (Е-тфр-РОК и Е-тфч-РОК). Количественное определение сывороточных иммуноглобулинов, классов G, M, A, производилось методом радиальной иммунодиффузии в геле, по Ж. Манчини.

Статистическая обработка результатов исследования производилась методами вариационной статистики, по компьютерной программе ЕРINFO. Достоверность различий показателей определялась по критерию Стьюдента.

Результаты исследования

Результаты исследования показали, что в прогрессировании болезни хронического вирусного гепатита дельта, большую роль играют взаимоотношения таких компонентов двух вирусов, как ДНК ГВ и РНК ГД, обнаруживаемых часто в крови больных и также изменение биохимических, показателей клеточного и гуморального иммунитета.

Анализ клинических признаков на наличие ХВГД в крови у обследуемых больных с различной вирусной нагрузкой ДНК HBV и РНК HDV позволил нам выявить некоторые закономерности в распределении частот симптомов в обеих группах (рисунок).



Клиническая характеристика больных с хроническим вирусным гепатитом дельта, в зависимости от репликативной активности HBV- и HDV-инфекций (n=218)

Результаты анализов симптоматики подтверждают зависимость частоты клинических симптомов от репликативной активности HBV- и HDV-инфекций. Сравнение результатов

клинических данных у больных ХВГD с минимальной активностью HBV и высокой репликативной активностью HDV-инфекции показало, что наиболее частыми симптомами при этом варианте были следующие, более выраженные, чем во второй группе больных: слабость (87,0 %), чувство тревоги – (84,9 %), боли в правом подреберье – (78,4 %), снижение аппетита – (76,0 %), внепеченочные знаки – (66,7 %), головная боль – (65,0 %), носовые кровотечения – (37,5 %). При этом, у 27,9 % больных наблюдался асцит, в сочетании с портальной гипертензией.

Гепатомегалия наблюдалась у (79,5 %) обследованных больных. У этих больных край печени выступал на 1,5–2,0–2,1 см ниже реберной дуги, печень была болезненной при пальпации. По консистенции печень чаще всего была плотной. Спленомегалия наблюдалась у (60,2 %) больных. У (43,0 %) больных желтуха была умеренной и сопровождалась кожным зудом (39,7 %). Как следует из рисунка, такие симптомы как слабость, головная боль, снижение аппетита, тошнота, спленомегалия и желтуха были чаще всего в первой группе больных. Асцит, в сочетании с портальной гипертензией, у больных при минимуме репликативной активности HDV-инфекции ни у одного пациента не был зарегистрирован. Изменения биохимических показателей больных с хроническим вирусным гепатитом дельта, в зависимости от репликативной активности HBV- и HDV-инфекций, представлен в таблице 1.

Таблица 1

Биохимические показатели больных с хроническим вирусным гепатитом дельта в зависимости от репликативной активности HBV- и HDV-инфекций (n=218)

Показатели биохимических исследований	Вирусная нагрузка				P
	HBV (min)	HDV (max)	HBV (max)	HDV (min)	
	n=186		n=32		
	M±m		M±m		
АСТ (мккат) 0,14	0,6±0,3		0,3±0,1		>0,05
АЛТ (мккат) 0, 06	1,0±0,5		0,5±0,1		>0,05
Общий билирубин (ммоль/л) 8,5–20,5	38,2±2,8		22,2±0,2		<0,01
Общий белок г/л	54,2 ±5,8		62,1±1,9		>0,05
Мочевина (ммоль/л) 2,5–8,3	5,8±1,4		5,2±0,8		>0,05
Креатинин(ммоль/л) 44–115	85,5±2,78		80,5±2,3		>0,05
Протромбиновый индекс (%)	48,0±0,1		60,2±0,1		<0,01
Тимоловая проба (ед.) 0–6	18,7±7,5		8,4±1,5		<0,05
Альбумин (г/л) 60 (50–70)	30,2±8,3		42,0±3,5		<0,05
γ-глобулин (%) 10 (8–19)	32,1,±7,8		25,6±4,1		<0,05
Остаточный азот (%) 8–29	26,2±3,5		23,0±3,2		>0,05
Холестерин (ммоль/л) 3,35–6,45	5,1±0,2		4,1±0,2		>0,05
Щелочная фосфатаза (Е/л) до 280 МЕ	143,0±13,8		131,0±12,4		>0,05

Анализ биохимических показателей крови показал, что у больных ХВГД с минимальной активностью HBV и высокой репликативной активностью HDV-инфекции, уровень общего билирубина был значительно выше, чем во второй группе больных, составляя, в среднем, $38,2 \pm 2,8$ и $22,2 \pm 0,2$ мкмоль/л ($P < 0,01$), соответственно. В динамике течения ХВГД отчетливо прослеживалась гипералатемия. При обращении больных в клинику этот показатель, в данном случае первой группы, в среднем составлял $1,0 \pm 0,5$ мккат. Достоверных различий показателей в обеих группах не наблюдалось ($P > 0,05$). На протяжении всего периода заболевания отмечались высокие показатели тимоловой пробы. При этом уровень ее в первой группе больных был достоверно выше, по сравнению со второй - $18,7 \pm 7,5$ ед; и $8,4 \pm 1,5$ ед., соответственно ($P < 0,05$).

У больных ХВГД, с минимальной активностью HBV и высокой репликативной активностью HDV-инфекции, был существенно низким уровень альбуминов и повышен уровень гамма-глобулинов, по сравнению со второй группой, составив, в среднем $30,2 \pm 8,3$, $32,1 \pm 7,8$; $42,0 \pm 3,5$, $32,1 \pm 7,8$, соответственно ($P < 0,05$). Протромбиновый индекс был снижен у пациентов первой группы в сравнении со второй группой пациентов - $48,0 \pm 0,1$; и $60,2 \pm 0,1$ ед., соответственно ($P < 0,01$). У больных ХВГД, у которых наблюдался переход в цирроз печени, а также у больных циррозом печени, сохранялись гипоальбуминемия и гипер-гамма-глобулинемия. Эти показатели считаются у клиницистов являющиеся неблагоприятными признаками течения болезни.

Содержание лейкоцитов у больных с минимальной нагрузкой HBV составляет $1,9 \pm 0,1$ тыс./мкл, в отличие от показателей у больных с высокой нагрузкой HBV. Однако уровень содержания лейкоцитов в крови у больных второй группы был все же выше ($3,8 \pm 0,1$ тыс./мкл), чем в первой и, достоверно, отличался от тех же показателей у здоровых лиц ($5,7 \pm 0,17$ тыс./мкл) (табл. 2).

Таблица 2

Показатели иммунологического статуса больных с хроническим вирусным гепатитом дельта в зависимости от репликативной активности HBV- и HDV-инфекций

Показатели иммунитета	Контрольная группа M±m	Вирусная нагрузка				P
		HBV (min)	HDV (max)	HBV (max)	HDV (min)	
		n=186		n=32		
		M±m		M±m		
Количество лейкоцитов (тыс./мкл)	$5,7 \pm 0,17$	$1,9 \pm 0,1$		$3,8 \pm 0,1$		$< 0,01$
Лейкоцитарная формула:						
лимфоциты (%)	$48,0 \pm 0,65$	$37,4 \pm 1,2$		$36,2 \pm 1,0$		$> 0,05$
эозинофилы (%)	$1,40 \pm 0,09$	$1,5 \pm 0,1$		$1,6 \pm 0,1$		$> 0,05$

моноциты (%)	2,53±0,12	3,4±0,2	3,6±0,2	>0,05
нейтрофилы (%)	47,0±0,66	50,4±11,6	52,4±12,0	>0,05
базофилы (%)	0,60±0,61	4,0±0,3	4,1±0,4	>0,05
T-лимфоциты (%)	47,7±1,0	22,5±2,0	34,4±2,0	<0,01
Ea-РОК (%)	5	16,1±0,8	9,1±0,7	<0,01
T-хелперы (теофиллин-резистентные) (%)	33-46	18,7±2,0	23,7±2,0	<0,05
T-супрессоры (теофиллинчувствительные) (%)	17-30	29,6±1,4	36,6±1,6	<0,05
Индекс ИРИ	1,4-2,0	1,5±0,1	1,4±0,1	>0,05
СД-16 (NK) (%)	10-24	26,2±2,1	32,2±2,4	>0,05
ЦИК (Om-Eg)	110	186,5±8,2	130,5±6,2	<0,01

При оценке T-клеточного иммунитета установлено постепенное снижение экспрессии E-рецепторов лимфоцитов в обеих группах. Здесь имело место значительное уменьшение количества T-лимфоцитов в сравнении с контрольной группой, что составляло 47,7±1,0 %. Тогда, как число T-лимфоцитов в крови у больных с высокой нагрузкой HDV оставалось значительно сниженным, в сравнении с больными, имеющими минимальную нагрузку HDV (P<0,01).

У обследуемых больных обеих групп обнаружено снижение в крови уровня субпопуляции лимфоцитов с хелперной функцией, при одновременном увеличении концентрации супрессорной фракции T-лимфоцитов. Соотношение показателей содержания в крови иммунорегуляторных субпопуляций (T_х/T_с) в обеих группах, практически было одинаковым 1,5±0,1 ед. Но этот показатель был все же ниже контроля (2,57±0,7) ед.

Снижение в крови больных общего содержания T-лимфоцитов, на наш взгляд, происходило, по-видимому, за счет миграции их в орган-мишень (печень), дискооперации иммунокомпетентных клеток. Развивающийся у больных гиперсупрессорный иммунодефицит объясняется тем, что механизмы регуляции у них в иммунной системе весьма слабы и не способны преодолеть вирусиндуцированную супрессию.

Основное внимание в иммунологических исследованиях хронических вирусных гепатитов (ХВГ) и циррозов печени было уделено значению гуморальных факторов иммунитета. Нами здесь следует отметить повышение уровня относительного и абсолютного содержания M-РОК у больных в обеих группах. Хотя вирусная нагрузка HDV у них весьма различна (табл. 3).

Таблица 3

Показатели гуморального иммунитета больных ХВГD при различных вирусных нагрузках HBV- и HDV-инфекций

Показатели иммунитета	Контроль- ная группа M±m	Вирусная нагрузка				P
		HBV (min)	HDV (max)	HBV (max)	HDV (min)	
		n=186		n=32		
		M±m		M±m		
В-лимфоциты (%)	17,6±0,7	22,9±1,5	30,9±1,6	<0,01		
Ig A г/л	0,8±0,04	2,7±0,1	1,7±0,1	<0,01		
Ig M г/л	0,7±0,9	1,8±0,1	1,5±0,1	<0,05		
Ig G г/л	15,2±0,05	10,8±0,4	10,2±0,3	>0,05		
Фагоцитарный индекс %	64,3±1,0	30,2±3,2	36,4±3,1	>0,05		

Функциональная активность В-лимфоцитов в крови больных при высокой нагрузке HDV характеризовалась достоверным увеличением уровня иммуноглобулинов IgA – 2,7±0,1 г/л, IgM - 1,8±0,1 г/л. Такая же закономерность наблюдалась и у больных с минимальной вирусной нагрузкой HDV (IgA – 1,7±0,1 г/л, IgM - 1,5±0,1 г/л) (табл. 3). Наблюдалось также значительное снижение синтеза IgG в обеих группах больных гепатитом дельта, доходя до показателей, IgG-10,5±0,4 г/л и IgG-10,2±0,3 г/л, соответственно.

На наш взгляд, определенное прогностическое значение имеет содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Выявлено, что показатели ЦИК у больных обеих групп достоверно различались, в среднем, составляя величины 110,2±0,06 ед. У больных с высокой нагрузкой HDV, содержание ЦИК было на уровне 189,5±8,2ед. При оценке фагоцитарной активности нами установлено снижение фагоцитарного индекса. В обеих группах показатели фагоцитоза были в пределах 30,4±3,2-36,4±3,1, соответственно. В контрольной группе на уровне -64,3±1,0 %.

Заключение

Исходя из полученных результатов, можно заключить, что клинические симптомы и биохимические изменения были более выраженными у больных с активной репликацией вируса D. Первые проявления болезни соответствовали жалобам больных на быструю утомляемость, ухудшение общего самочувствия, слабость головные боли, снижение толерантности к обычным физическим нагрузкам, эмоциональной неустойчивостью. В динамике течения отчетливо прослеживалась гипералатемия. На протяжении всего периода заболевания отмечались высокие показатели тимоловой пробы. При этом уровень ее в первой группе больных был достоверно выше, по сравнению со второй – 18,7±7,5 ед.; и 8,4±1,5 ед., соответственно (P<0,05). У больных ХВГD, с минимальной активностью HBV и высокой репликативной активностью HDV-инфекции, был существенно низким уровень

альбуминов и повышен уровень гамма-глобулинов, по сравнению со второй группой, составив, в среднем $30,2 \pm 8,3$, $32,1, \pm 7,8$; $42,0 \pm 3,5$, $32,1, \pm 7,8$, соответственно ($P < 0,05$). Проявление и прогрессирование этих симптомов соответствовали постепенному развитию печеночной интоксикации. Нами подтверждается, что иммунологические тесты могут явиться дополнительным критерием при дифференциальной диагностике хронического гепатита дельта, особенно у больных с различными вирусными нагрузками, при прогнозе их течения. Так, в случае с высокой репликативной активности HDV-инфекции наблюдаются более выраженные сдвиги в состоянии клеточного иммунитета, выражающиеся в супрессии отдельных субпопуляций лимфоцитов, лишь, в некоторой степени, затрагивающие гуморальное звено иммунитета.

Список литературы

1. Блохина Н.П. Хронический гепатит дельта (клиника, диагностика, лечение): автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 1989.
2. Мансуров Х.Х., Мирождов Г.К., Махмудов Д.Ш. Хронические диффузные поражения печени дельта-вирусной этиологии // Проблемы гастроэнтерологии. – 1997. – № 1-2. – С. 32-39.
3. Clinical virology: Hepatitis delta virus. / Richmann D.D., Hayden F.G., eds. – Washington DC: ASM Press, 2002. – P. 1227-1240.
4. Farci P. Treatment of chronic hepatitis D: new advances, old challenges // Hepatology. – 2006. – Vol. 189. No. 7. – P. 1151-1157.
5. Abbas Z., Khan M.A., Salih M., Jafri W. Interferon alpha for chronic hepatitis D // Cochrane Database Syst. Rev. – 2011. – No. 12. – CD006002.
6. De Man R.A., Heijtnik R.A. et al. New developments in antiviral therapy for chronic hepatitis B infection // Scand. J. Gastroenterol. – 1995. – Vol. 30, Suppl. 21. – P.100-105.