

ФИБРОЗ ПЕЧЕНИ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ С ПРИ НАЛИЧИИ ИЛИ ОТСУТСТВИИ КОИНФЕКЦИИ С ВИЧ

Борисова О.В.¹, Теряева М.А.²

¹ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет», Самара, e-mail: olgaborisova74@mail.ru;

²ГБУЗ «Самарский областной центр профилактики и борьбы со СПИД», Самара, e-mail: vrach-84@bk.ru

Учитывая недостаточное количество данных о факторах риска прогрессирования фиброза печени у детей, предпринято обследование 57 подростков с хроническим вирусным гепатитом С (ХГС). Выделены две группы пациентов: I группа – дети с коинфекцией ВИЧ и ХГС (n=28), II группа – дети с моноинфекцией ХГС (n=29). Произведена оценка уровня цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО-альфа) как важных компонентов механизма формирования фиброза печени. Всем пациентам определена эластичность печени методом транзientной эластографии, а также произведен подсчет индексов фиброза FIB-4 и APRI. В результате выявлено, что частота фиброза печени у детей I группы составила 32,1%, у детей II группы – 24,1%. Отмечается повышение уровня ИЛ-4 у пациентов I и II групп. Выявлена взаимосвязь ИЛ-6 с уровнем ПЦР РНК гепатита С (количественный) (p=0,506, p=0,006), а также с индексом фиброза APRI (p=0,42, p=0,0260) у пациентов I группы. Полученные данные свидетельствуют о сохранении воспалительной реакции в ткани печени, приводящей к прогрессированию хронического заболевания и формированию фибротических изменений. Авторы также предполагают, что ИЛ-6 стимулирует и поддерживает фибротические процессы в печени.

Ключевые слова: дети, ВИЧ, хронический гепатит С, фиброз печени, цитокины.

LIVER FIBROSIS IN CHILDREN WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS C IN THE PRESENCE OR ABSENCE OF CO-INFECTION WITH HIV

Borisova O.V.¹, Teryaeva M.A.²

¹Samara State Medical University, Samara, e-mail: olgaborisova74@mail.ru;

²Samara Regional Center for AIDS Prevention and Control, Samara, e-mail: vrach-8@bk.ru

Given the insufficient data on risk factors for the progression of liver fibrosis in children, 57 adolescents with chronic viral hepatitis C (HCV) were examined. Two groups of patients were identified: group I – children with HIV and HCV co-infection (n=28), group II – children with HCV mono-infection (n=29). The level of cytokines (IL-4, IL-6, IL-10, TNF-alpha) as important components of the mechanism of liver fibrosis was assessed. Liver elasticity was determined in all patients by transient elastography, and fibrosis indices FIB-4 and APRI were calculated. As a result, it was revealed that the frequency of liver fibrosis in children of group I was 32.1%, in children of group II – 24.1%. There is an increase in the level of IL-4 in patients of group I and II. The relationship of IL-6 with the level of PCR of hepatitis C RNA (quantitative) (p=0.506, p=0.006), as well as with the APRI fibrosis index (p=0.42, p=0.0260) in group I patients was revealed. The data obtained indicate the persistence of an inflammatory reaction in the liver tissue, leading to the progression of chronic disease and the formation of fibrotic changes. The authors also suggest that IL-6 stimulates and supports fibrotic processes in the liver.

Keywords: children, HIV, chronic hepatitis C, liver fibrosis, cytokines.

Фиброз печени – генетически запрограммированный процесс, возникающий в ответ на воздействие повреждающего агента, проявляющийся в виде избыточного накопления компонентов экстрацеллюлярного матрикса в результате активации звездчатых клеток печени. Одним из ведущих этиологических факторов развития фиброза печени является ХГС. В детском возрасте особенностью течения ХГС является медленный темп прогрессирования фибротических процессов в ткани печени [1]. При этом от 1 до 4% детей с ХГС все же имеют риск развития цирроза печени. Фиброз может возникнуть у 15% детей [1, 2]. Из-за медленного темпа прогрессирования фиброза у детей мало установленных достоверных факторов риска

прогрессирования заболевания [3]. Ряд авторов связывают развитие продвинутых стадий фиброза печени у детей, инфицированных ХГС, с наличием у них сопутствующей патологии (гематологических заболеваний, ожирения, онкопатологии, коинфекции с ВИЧ, вирусного гепатита В) [4, 5]. При коинфекции ВИЧ и ХГС имеет место феном агрессивного фиброгенеза ткани печени.

Большое значение в формировании фиброза печени придается способности цитокинов изменять функциональную активность фибробластов. Ряд цитокинов стимулируют продукцию компонентов экстрацеллюлярного матрикса, за исключением интерлейкина-10 (ИЛ-10) [6]. Активированные под влиянием цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ФНО- α) звездчатые клетки трансформируются в миофибробласты и начинают вырабатывать основные компоненты межклеточного матрикса, что приводит к формированию фиброза печени. Концентрация уровня ряда цитокинов может служить маркером печеночного фиброгенеза.

Поиск неизвизивных маркеров фиброза печени представляет несомненный научный интерес, так как применение биопсии как золотого стандарта диагностики фиброза и цирроза печеночной ткани часто сопряжено с возникновением серьезных осложнений.

Цель исследования – выявить особенности показателей фиброза печени и цитокинового профиля у детей с коинфекцией ВИЧ и хронического вирусного гепатита С (ХГС).

Материал и методы исследования. Исследование проведено на базе ГБУЗ «Самарский областной центр профилактики и борьбы со СПИД». За период с 2014 по 2022 годы были обследованы 57 детей. Все пациенты были распределены на две группы. I группа — дети с коинфекцией ВИЧ и ХГС (n=28), II группа — пациенты с моноинфекцией ХГС (n=29). Средний возраст детей I группы составил 15,5 [12,0; 17,5] года, II группы – 15,0 [13,0; 16,0] лет (p=0,091). При распределении по полу в I группе незначительно преобладали девочки – 53,6%; мальчиков соответственно 46,4% (p>0,5), тогда как во II группе отмечалось преобладание лиц мужского пола – 69%; 31% женского пола соответственно. Средний возраст на момент постановки диагноза «ВИЧ-инфекция» составил 23,8 [18,3;25,8] месяца. У 19% детей ВИЧ-инфекция выявлена до 18 месяцев жизни, методами ПЦР ДНК ВИЧ, ПЦР РНК ВИЧ, у 81% пациентов – старше 18 месяцев, методом иммунного блоттинга. Исследование иммунного статуса (CD3, CD4, CD8, CD4/CD8) осуществляли методом проточной цитометрии. Методом иммуноферментного анализа произведена оценка цитокинового профиля пациентов, определены уровни интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-4 (ИЛ-4), интерлейкина-10 (ИЛ-10), фактора некроза опухоли-альфа (ФНО-альфа). Осуществлен подсчет индексов фиброза APRI и FIB-4. Всем пациентам определен уровень эластичности печени методом транзистентной эластографии на аппарате «Fibroscan 502». Стадия фиброза печени оценивалась по шкале METAVIR.

Статистический анализ проводился с использованием пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 26 версия (USA). Данные представлены в виде средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD) при нормальном распределении, при распределении, отличном от нормального, – медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1-Q3). Статистически значимым различие между оцениваемыми группами считалось при $p < 0,05$. Сравнение двух групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, при условии равенства дисперсий выполнялось с помощью t-критерия Стьюдента, при отсутствии равенства дисперсий применялся критерий Уэлча. Направление и теснота корреляционной связи между двумя количественными показателями оценивались с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (при распределении показателей, отличном от нормального) и коэффициента Пирсона (при нормальном распределении).

Результаты исследования и их обсуждение

Среди всех детей, вошедших в исследование, фиброз печени различной степени выраженности от F1 до F4 по METAVIR наблюдался у 16 (28%) пациентов (согласно данным, полученным при транзитной эластографии печени). При этом у абсолютного числа детей с фиброзом печени определялась стадия F1 по METAVIR – у 13 человек. Частота фиброза печени у детей I группы составила 32,1%, у детей II группы – 24,1% ($p < 0,05$). Медиана эластичности печени у пациентов I группы – 5,4 [4,3;5,95] кПа, у детей II группы – 4,9 [4,3;5,7] кПа ($p = 0,355$). У 41 (72%) ребенка не было выявлено фиброза в ткани печени (стадия фиброза F0 по METAVIR).

В ходе исследования были рассчитаны несколько индексов, основанных на комбинации не прямых маркеров фиброза печени, в частности индекс FIB-4 и индекс APRI (табл. 1).

Таблица 1

Сравнительная характеристика показателей фиброза печени у детей I и II групп

Показатель	Группа I (n=28)	Группа II (n=29)	p
Эластичность печени, кПа	5,4 [4,3;5,95]	4,9 [4,3;5,70]	0,355
Индекс FIB-4	0,325 [0,29;0,46]	0,384±0,161	0,893
Индекс APRI	0,310 [0,25;0,45]	0,43 [0,23;0,51]	0,085
χ^2 Пирсона, df 1, достоверность при $p < 0,05$			

Статистически значимых различий по уровню эластичности печени, индексу FIB-4 и индексу APRI у пациентов I и II групп выявлено не было. При этом у детей I группы

достоверно чаще отмечался повышенный уровень эластичности печени, свидетельствующий о наличии фиброза, по сравнению с пациентами II группы.

У пациентов I группы средний уровень индекса APRI составил 0,310 [0,25; 0,45], II группы – 0,43 [0,23;0,51]. Повышенный уровень индекса APRI отмечался у 14% детей I группы и 24% пациентов II группы. Абсолютно все дети, вошедшие в исследование, имели значение индекса FIB-4 менее 1,45, что соответствует критерию «отсутствие выраженного риска формирования фиброза печени».

Учитывая важную роль ряда цитокинов в активации звездчатых клеток печени и дальнейшем формировании фиброза, авторы провели оценку уровня цитокинов у детей I и II групп (табл. 2).

Таблица 2

Сравнительная характеристика уровня цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-4, ИЛ-10, ФНО- α) у детей I и II групп

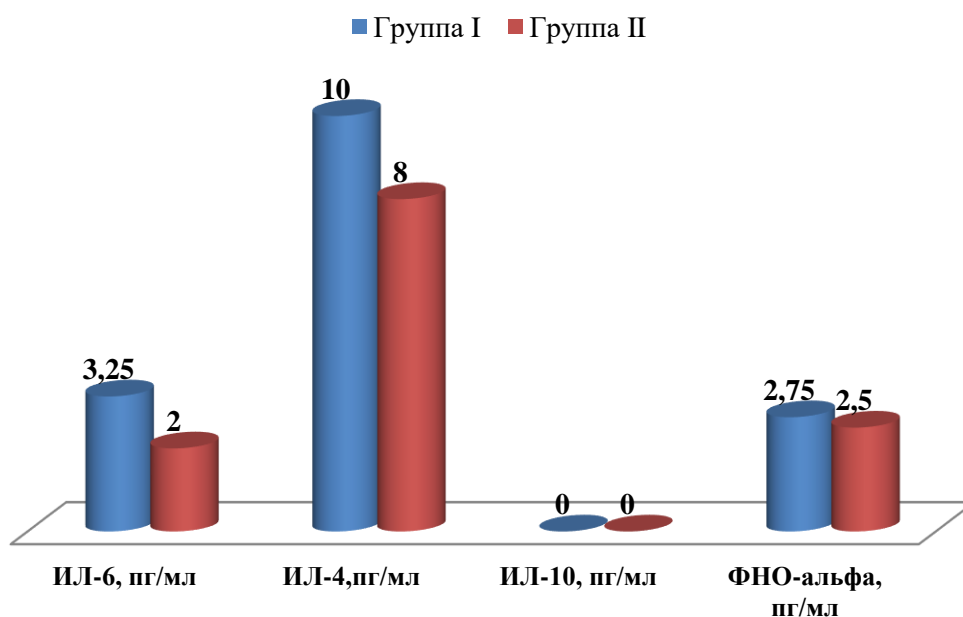
Показатель	Группа I (n=28)	Группа II (n=29)	p	Норма
ИЛ-6 пг/мл	3,25 [2,00;4,00]	2,00 [2,00;3,00]	0,003	0-10
ИЛ-4 пг/мл	10,00 [3,00;10,00]	8,00 [3,00;10,00]	0,236	0-4
ИЛ-10 пг/мл	0,00 [0,00;5,00]	0,00 [0,00;0,00]	0,130	0-31
ФНО-α пг/мл	2,75 [2,25;4,00]	2,50 [2,00;3,00]	0,900	0 – 6
χ^2 Пирсона, df 1, достоверность при p<0,05				

У пациентов I, и II группы отмечается увеличение уровня ИЛ-4 относительно референсных значений (p=0,236).

При сравнении уровня цитокинов у детей I и II групп было выявлено значимое различие по показателю ИЛ-6 (p=0,003).

Многие авторы подчеркивают, что ИЛ-6 стимулирует и поддерживает фибротические процессы в печени [7, 8].

У пациентов II группы обнаружена значимая корреляция между уровнем ИЛ-6 и наличием жирового гепатоза (p<0,001) (рисунок).



Цитокиновый профиль пациентов I и II групп

При проведении корреляционного анализа выявлена взаимосвязь уровня ИЛ-4 у пациентов II группы с гепатомегалией ($p < 0,001$), а у пациентов I группы – с заболеваниями желудочно-кишечного тракта ($p = 0,019$).

Важно отметить наличие умеренной тесноты прямую связь уровня ИЛ-6 с уровнем ПЦР РНК гепатита С (количественный) ($p = 0,506$, $p = 0,006$), а также с индексом фиброза APRI ($p = 0,42$, $p = 0,0260$) у пациентов I группы. Данный факт может свидетельствовать о сохраняющемся воспалении в ткани печени, вызванном ХГС. Стойкое воспаление способно активировать звездчатые клетки печени, что способствует развитию и сохранению фиброза.

Среди пациентов, вошедших в исследование, тяжелый фиброз печени был выявлен у одного подростка с коинфекцией ВИЧ/ХГС. Пациент Д., 2003 года рождения. Ребенок рожден от 3-й беременности, 1-х срочных самопроизвольных родов. Мать имела коинфекцию ВИЧ/ХГС, страдала героиновой наркоманией, не принимала антиретровирусную терапию (АРТ) во время беременности. Мальчик заражен ВИЧ и ХГС вертикальным путем. Течение ХГС характеризовалось волнообразной гиперферментемией, с минимальной степенью цитолитической активности. Среди клинических проявлений преобладали признаки астеновегетативного синдрома. Перенесенные заболевания: рецидивирующие респираторные инфекции, шейный лимфаденит с абсцедированием, острый гнойный отит, острый трахеобронхит.

В возрасте 9,5 года впервые назначена АРТ по схеме: зидовудин, ламивудин, нелфинавир (ZDV, ЗТС, NLV). Смена схемы через полгода от старта на зидовудин, ламивудин, лопинавир/ритонавир (ZDV, ЗТС, LPV/r). В последующем препарат лопинавир/ритонавир

заменен на эфавиренз в связи со рвотой. По результатам теста на резистентность ВИЧ к АРТ был выявлен высокий уровень устойчивости к ламивудину, невирапину, эфавирензу, в связи с чем препарат эфавиренз заменен на атазанавир, бустированный ритонавиром.

До достижения 15,5 лет приверженность пациента терапии была крайне низкая, наблюдались периоды полного отказа от приема АРТ, негативное отношение к лечению, в связи с чем ни разу не было достигнуто неопределяемого уровня РНК ВИЧ.

В июне 2019 г., в возрасте 15 лет 7 месяцев, пациент госпитализирован в ФКУ «Республиканская клиническая инфекционная больница» Минздрава России с диагнозом: ВИЧ-инфекция. Стадия вторичных заболеваний 4 А, фаза прогрессирования на фоне нерегулярного приема АРТ. Рецидивирующие острые респираторные инфекции. Персистирующая генерализованная лимфаденопатия. Гепатомегалия. Хроническая герпетическая инфекция, персистирующее течение, ремиссия. Хроническая цитомегаловирусная инфекция, персистирующее течение, ремиссия. Тубконтакт с матерью. Гипохромная анемия средней степени тяжести. Сопутствующий диагноз: Хронический вирусный гепатит С, 1 в генотип, минимальной степени биохимической активности, неутонченная стадия, репликативная фаза (РНК HCV+).

При поступлении на стационарное лечение у пациента были выявлены репликация ВИЧ (РНК ВИЧ – 27027 коп./мл), а также тяжелый иммунодефицит (CD4 – 10% (168 кл/мкл)). По данным клинического анализа крови у пациента выявлена гипохромная анемия средней степени тяжести (уровень гемоглобина – 79 г/л). В биохимическом анализе крови отмечались повышение уровня АЛТ (46,3 Е/л), АСТ (42,7 Е/л), соответствующее минимальной степени цитолитической активности, а также повышение уровня щелочной фосфатазы (1014,1 Е/л), что является проявлением синдрома холестаза.

По данным УЗИ органов брюшной полости паренхима печени незначительно диффузно-неоднородная, эхогенность неравномерно повышенная, выявлены обеднение сосудистого рисунка, нарушение реологических свойств желчи.

Анализ на резистентность ВИЧ показал наличие мутаций ко всем препаратам класса нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы и ненуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы, а также устойчивость к ингибиторам протеазы (высокую к атазанавиру, нелфинавиру, низкую к лопинавиру/ритонавиру). В связи с этим произведена смена схемы лечения на дарунавир/ритонавир, ламивудин, долутегравир (**DRV/r, 3ТС, DTG**). В результате через 3 месяца впервые достигнуто полное подавление репликации ВИЧ. Восстановление уровня CD4-лимфоцитов (795 кл/мкл) произошло только через 5 месяцев после подавления размножения ВИЧ. В последующем отмечалась высокая, стабильная приверженность пациента АРТ.

В апреле 2020 года, в возрасте 16 лет 3 месяцев, пациенту впервые определена эластичность печени методом транзиентной эластографии: медиана эластичности составила 14,5 кПа, что соответствует стадий фиброза F4 по шкале METAVIR. Определен индекс фиброза APRI – 1,78 и FIB-4 – 0,95, отмечалось повышение уровня ИЛ-4 до 10 пг/мл.

В возрасте 16,5 лет пациенту была проведена противовирусная терапия (ПВТ) ХГС препаратом глекапревир/пибрентасвир в течение 8 недель. Уровень РНК к гепатиту С (количественный) перед стартом ПВТ – $2,7 \times 10^6$ МЕ/мл. На период ПВТ препараты дарунавир/ритонавир (DRV/r) отменены в связи с возможным возникновением нежелательных реакций при взаимодействии препаратов глекапревир/пибрентасвир и дарунавир. На всем протяжении ПВТ сохранялась подавленная вирусная нагрузка ВИЧ. По окончании курса ПВТ пациент был возвращен к прежней схеме АРТ (DRV/r, 3ТС, DTG). Репликация ВГС была подавлена через 8 недель от начала ПВТ, а также через 12 недель после окончания курса ПВТ. У пациента наблюдался устойчивый вирусологический ответ в отношении вируса гепатита С в течение 2 лет, диагноз ХГС был снят.

Через 2 года после ПВТ, в возрасте 18,5 года, пациенту повторно выполнена транзиентная эластография печени: медиана эластичности составила 6,5 кПа, что соответствует стадий фиброза F1 по шкале METAVIR.

Данный клинический пример доказывает тот факт, что длительная низкая приверженность пациента АРТ, отсутствие подавления репликации ВИЧ приводят к ускорению прогрессирования фиброза печени (стадий фиброза F4 по шкале METAVIR, высокий уровень APRI – 1,78). Высокий уровень ИЛ-4 свидетельствует о поддержании воспаления в ткани печени, что также способствует формированию фиброза. Подавление репликации ВИЧ и ВГС способствовало восстановлению структуры печени, снижению стадий фиброза до F1 по шкале METAVIR. Важно отметить обратимость процессов фиброгенеза печени у детей при устранении этиологических факторов, приводящих к повреждению печеночной ткани.

Заключение. Сохранение воспалительной реакции в ткани печени влияет на прогрессирование хронического заболевания и формирование фибротических изменений. Это подтверждается повышенным уровнем ИЛ-4 у пациентов I и II группы, а также выявленной взаимосвязью ИЛ-6 с уровнем ПЦР РНК гепатита С (количественный) ($p=0,506$, $p=0,006$), а также с индексом фиброза APRI ($p=0,42$, $p=0,0260$) у пациентов I группы. ИЛ-6 является основным медиатором воспаления и острофазовых реакций печени, необходим для блокирования апоптоза во время воспалительного процесса, его активность может влиять на прогрессирование хронического заболевания, стимулировать и поддерживать фибротические процессы в ткани печени.

Список литературы

1. Mohan P., Barton B.A., Narkewicz M.R., Molleston J.P., Gonzalez-Peralta R.P., Rosenthal P., et al. Evaluating progression of liver disease from repeat liver biopsies in children with chronic hepatitis C: a retrospective study // *Hepatology*. 2013. Vol. 58. Is. 5. P. 1580-1586. DOI: 10.1002/hep.26519.
2. Cacoub P., Gragnani L., Comarmond C., Zignego A.L. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C virus infection // *Dig Liver Disease*. 2014. Vol. 46. Is. 5 P. 165-173. DOI: 10.1016/j.dld. 2014.10.005.
3. Khatun M., Ray R.B. Mechanisms Underlying Hepatitis C Virus-Associated Hepatic Fibrosis // *Cells*. 2019. Vol. 8. Is. 10. P. 1249. DOI: 10.3390/cells8101249.
4. El-Guindi M.A. Hepatitis C Viral Infection in Children: Updated Review // *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2016. Vol. 19. Is. 2. P. 83-95. DOI:10.5223/pghn.2016.19.2.83.
5. Indolfi G., Guido M., Azzari C., Resti M. Histopathology of hepatitis C in children, a systematic review: implications for treatment // *Expert Rev Anti Infect Therapy*. 2015. Vol. 13. P. 1225.
6. Романова С.В., Жукова Е.А., Видманова Т.А., Коркоташвили Л.В. Механизмы формирования фиброза при хронических заболеваниях печени у детей // *Педиатрия. Журнал им. Г. Н. Сперанского*. 2012. №4. С. 32-37.
7. Binder B., Thimme R. CD4+ T Cell Responses in Human Viral Infection: Lessons From Hepatitis C // *Journal Clinical Investigation*. 2020. Is. 130 P. 595-597. DOI: 10.1172/JCI133222.
8. Ganesan M., Poluektova L.Y., Kharbanda K.K., Osna N.A. Human Immunodeficiency Virus and Hepatotropic Viruses Co-Morbidities as the Inducers of Liver Injury Progression // *World Journal Gastroenterol*. 2019. Is. 25. P. 398–410. DOI: 10.3748/wjg.v25.i4.398.