

Субпопуляции лимфоцитов, уровень интерферонов и экспрессия их рецепторов у больных хроническими гепатитами В и С: зависимость от вида вирусов и степени фиброза печени

О.В. КАЛЮЖИН¹, Ж.Б. ПОНЕЖЕВА², И.В. СЕМЕНОВА², О.Н. ХОХЛОВА², Л.В. СЕРЕБРОВСКАЯ², Т.С. ГУСЕВА³, О.В. ПАРШИНА³, В.В. МАЛЕЕВ²

¹ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва, Россия; ²ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия; ³ФГБУ ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

Резюме

Цель исследования. У больных хроническим гепатитом В (ХГВ) и хроническим гепатитом С (ХГС) определить зависимость субпопуляционного состава циркулирующих лимфоцитов, концентрации интерферонов (ИФН) α , γ и $\lambda 3$ в сыворотке крови и экспрессии рецепторов ИФН I и II типов лимфоцитами от вида возбудителя заболевания и выраженности фиброза печени (ФП).

Материалы и методы. В исследование включили 44 больных ХГС, 9 пациентов ХГВ и 13 клинически здоровых доноров. Степень ФП у больных определяли с помощью транзитной эластографии печени. Проводили исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови, определение концентрации ИФН- α , ИФН- γ и ИЛ-28В.

Результаты. У больных ХГС и ХГВ число лимфоцитов в крови превосходило таковое у здоровых доноров, а количество нейтрофилов было снижено. Не выявлено различий между группами по субпопуляционному составу лимфоцитов за исключением числа клеток $CD3^+CD4^+$, которое у больных ХГС выше, чем у пациентов с ХГВ. Число лимфоцитов $CD118^+$ у больных ХГС и ХГВ выше, чем у здоровых доноров. По экспрессии $CD119$ лимфоцитами больные ХГС и ХГВ не различались между собой и со здоровыми донорами. Относительное число клеток $CD119^+$ среди лимфоцитов $CD4^+$ у больных ХГС выше, чем у здоровых доноров. Уровни ИФН- α и ИФН- γ в сыворотке крови больных ХГС и ХГВ не различались, однако превышали показатели здоровых доноров. Концентрация ИЛ-28В у больных ХГС была в 2 раза выше, чем у пациентов с ХГВ, но различия статистически незначимы. Число лимфоцитов в крови увеличивалось с прогрессированием ФП, число нейтрофилов — снижалось. Установлена обратная связь числа тромбоцитов с выраженностью ФП. Множественные сравнения кластеров больных с разной степенью ФП по численности основных субпопуляций лимфоцитов различий не выявили. Однако число клеток $CD3^+CD16^+CD56^+$ (NKT) коррелировало с выраженностью ФП. Различий между больными с разной степенью ФП по доле клеток $CD118^+$ и $CD119^+$ среди лимфоцитов, а также по уровню ИФН- α , ИФН- γ и ИЛ-28В в сыворотке крови не установлено. Доля лимфоцитов $CD4^+CD119^+$ среди клеток $CD45^+$ в крови у больных с IV ФП степени, выше чем у пациентов с ФП III степени.

Заключение. Выявлено несколько новых клинико-лабораторных закономерностей и уточнены характер и степень ранее описанных гематологических и иммунологических сдвигов у больных ХГС и ХГВ при разной степени ФП. Некоторые показатели могут быть использованы в качестве дополнительных критериев прогноза течения указанных форм гепатита, а ряд вновь описанных фактов свидетельствует о необходимости пересмотра защитного/флогогенного значения ИФН I, II и III типов при хронических вирусных гепатитах С и В.

Ключевые слова: гепатит С, гепатит В, фиброз печени, интерферон- α , интерферон- γ , интерлейкин-28В, лимфоциты $CD118^+$, лимфоциты $CD119^+$.

Lymphocyte subpopulations, levels of interferon, and expression of their receptors in patients with chronic hepatitis B and C: Correlation with the species of viruses and the degree of liver fibrosis

O.V. KALYUZHIN¹, ZH.B. PONEZHEVA², I.V. SEMENOVA², O.N. KHOKHLOVA², L.V. SEREBROVSKAYA², T.S. GUSEVA³, O.V. PARSHINA³, V.V. MALEEV²

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia; ²Central Research Institute of Epidemiology, Russian Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russia; ³N.F. Gamaleya Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Aim. To determine whether there is a correlation of the composition of circulating lymphocyte subpopulations, the serum concentrations of interferon (IFN)- α , IFN- γ , and IFN- $\lambda 3$, and the lymphocyte expression of types I and II IFN receptors with the species of a disease pathogen and the degree of liver fibrosis (LF) in patients with chronic hepatitis B (CHB) and in those with chronic hepatitis C (CHC).

Subjects and methods. The investigation enrolled 44 patients with CHC, 9 patients with CHB, and 13 clinically healthy donors. The degree of LF in the patients was determined using transient elastography. The composition of peripheral blood lymphocyte subpopulations was examined; the concentrations of IFN- α , IFN- γ , and IL-28B were estimated.

Results. Lymphocyte counts were higher in patients with CHC and in those with CHB than those in healthy donors; and the number of neutrophils was lower. There were no differences between the groups in the composition of lymphocyte subpopulations with the exception of the number of $CD3^+CD4^+$ cells, which in patients with CHC was larger than in those with CHB. In CHC and CHB patients, the counts of $CD118^+$ lymphocytes were higher than those in healthy donors. Patients with CHB and those with CHC did not differ between themselves and from healthy donors in the expression of $CD119$ on the lymphocytes. In CHC patients, the relative $CD119^+$ cell counts were higher between $CD4^+$ lymphocytes than those in healthy donors. The serum levels of IFN- α and IFN- γ in CHC and CHB patients were similar, but higher in healthy donors. The concentration of IL-28B genotype in patients

with CHC was twice as high as in those with CHB, but the differences were statistically insignificant. The number of lymphocytes increased with the progression of fibrosis; that of neutrophils decreased. There was an inverse relationship between platelet counts and LF severity. Multiple comparisons of the clusters of patients with different degrees of LF revealed no differences in the number of major lymphocyte subpopulations. However, the number of CD3⁺CD16⁺CD56⁺ natural killer-like T (NKT) cells correlated with fibrosis severity. Patients with different degrees of LF showed no differences in the proportion of CD118⁺ and CD119 cells between lymphocytes and in the serum levels of IFN- α , IFN- γ , and IL-28B levels. Patients with grade IV LF displayed a higher proportion of CD4⁺CD119⁺ lymphocytes between CD45⁺ cells than did those with grade III LF.

Conclusion. Several new clinical and laboratory trends were identified and the nature and extent of previously described hematological and immunological changes were clarified in CHC or CHB patients with various degrees of LF. Some indicators may be used as additional criteria for the prognosis of the above forms of hepatitis, and a number of newly described facts suggest that it is necessary to revise the protective/phlogogenic value of types I, II, and III IFNs in chronic viral hepatitis C and B.

Keywords: hepatitis C, hepatitis B, liver fibrosis, interferon- α , interferon- γ , interleukin-28B, CD118⁺ lymphocytes, CD119⁺ lymphocytes.

ГЦК — гепатоцеллюлярная карцинома

ИЛ — интерлейкины

ИФН — интерфероны

ФП — фиброз печени

ХГВ — хронический гепатит В

ХГС — хронический гепатит С

HBV — вирус гепатита В

HCV — вирус гепатита С

Несмотря на наметившийся закат эры интерферонотерапии вирусных гепатитов, ключевое значение интерферонов (ИФН) в естественной защите организма от вирусов гепатита В (HBV) и вирусов гепатита С (HCV) остается непрекаемым. Кроме того, не вызывают сомнений антифибротическое действие ИФН- α и протективный потенциал этого цитокина в отношении гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) [1]. Весьма заметную роль играют ИФН- λ 1—4 в защите от инвазии HBV и HCV и предотвращения ассоциированных с этими патогенами угрожающих жизни заболеваний (цирроз, рак) [2]. Полиморфизм гена ИФН- λ 3 (интерлейкина — ИЛ-28В) определяет эффективность противовирусного лечения и вероятность самопроизвольного очищения организма от HBV [3] и HCV [4]. ИФН- γ не обладает таким прямым виростатическим потенциалом, как ИФН I и III типа, но при этом стимулирует адаптивные (Т-клеточные) и врожденные (НК-клеточные) противовирусные реакции, являющиеся ключевыми факторами естественной эрадикации возбудителя. Биологические, в том числе защитные, эффекты ИФН определяются, с одной стороны, полиморфизмом их генов и уровнем продукции в ответ на вирусную инвазию, а с другой — степенью экспрессии рецепторов этих

цитокинов на клетках-мишенях. HBV и HCV обладают не только гепатотропностью, но и в значительной степени лимфотропностью [5, 6]. Персистирование в клетках крови рассматривается как важное звено патогенеза хронических форм вирусных гепатитов. От экспрессии сенсоров ИФН I и II типа на лимфоцитах *a priori* зависит способность этих клеток сопротивляться инфицированию вирусами. Вместе с тем результаты исследований взаимосвязи показателей клеточного иммунитета, экспрессии рецепторов ИФН разных типов на клетках периферической крови с таксономической принадлежностью вируса и степенью фиброза печени (ФП) крайне противоречивы.

Цель работы — у больных хроническим гепатитом В (ХГВ) и хроническим гепатитом С (ХГС) определить зависимость субпопуляционного состава циркулирующих лимфоцитов, концентрации ИФН- α , ИФН- γ и ИФН- λ 3 в сыворотке крови и экспрессии рецепторов ИФН I и II типов лимфоцитами от вида возбудителя заболевания и выраженности ФП.

Материалы и методы

Под наблюдением в клиническом отделе инфекционной патологии ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора на базе инфекционной клинической больницы №2 Департамента здравоохранения Москвы находились 53 больных хроническими вирусными гепатитами в возрасте 41,2 \pm 10,5 года (33 мужчины и 20 женщин), в том числе 9 пациентов с ХГВ, 44 с ХГС. Диагноз устанавливали на основании эпидемиологических, клинических и лабораторных данных при обнаружении специфических серологических маркеров ХГС или ХГВ и в отсутствие маркеров других вирусных гепатитов (иммуноферментный анализ), а также при выявлении РНК HCV или ДНК HBV (полимеразная цепная реакция). Контрольная группа состояла из 13 клинически здоровых доноров с отрицательными результатами серологических и молекулярных исследований на наличие маркеров вирусных гепатитов.

Степень ФП у больных определяли с помощью транзитной эластографии печени на аппарате Фиброскан 502 («Echosens», Франция).

Образцы крови для гематологических и иммунологических исследований брали утром натощак. Гематологические показатели

Сведения об авторах:

Понезева Жанна Бетовна — д.м.н., в.н.в. клинического отдела инфекционной патологии и специализированного научно-исследовательского отдела эпидемиологии и профилактики СПИД

Семенова Ирина Владимировна — м.н.с. клинического отдела инфекционной патологии и специализированного научно-исследовательского отдела эпидемиологии и профилактики СПИД

Хохлова Ольга Николаевна — к.м.н., н.с. клинического отдела инфекционной патологии и специализированного научно-исследовательского отдела эпидемиологии и профилактики СПИД

Серебровская Лидия Васильевна — к.м.н., с.н.с. специализированного научно-исследовательского отдела эпидемиологии и профилактики СПИД

Паришина Ольга Васильевна — н.с. лаб. онтогенеза и коррекции системы интерферона

Гусева Татьяна Сергеевна — н.с. лаб. онтогенеза и коррекции системы интерферона

Малеев Виктор Васильевич — акад. РАН, д.м.н., проф., врио директора ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора.

Контактная информация:

Калюзин Олег Витальевич — д.м.н., проф. каф. клинической иммунологии и аллергологии ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России; e-mail: kalyuzhin@list.ru

ли определяли с помощью анализатора AcT Diff («Beckman Coulter», США).

Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови проводили методом проточной цитофлюорометрии на цитометре EPICS XL («Beckman Coulter», США). Наряду со стандартной панелью, необходимой для определения количества основных субпопуляций лимфоцитов, разработаны дополнительные панели окрашивания для определения числа клеток, несущих на своей поверхности CD118 или CD119, а также популяции клеток CD45⁺CD4⁺CD119⁺. В работе использовали конъюгаты антител CD3-Fitc/HLA-DR-PE, CD8-Fitc/CD38-PE, CD3-Fitc/CD19-PE, CD3-Fitc/CD16-PE, CD45-Fitc/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5, CD3-Fitc/CD56-PE, CD45-PC5, CD118-PE, CD4-Fitc («Beckman Coulter», США), CD119-PE («eBioscience») и лизирующий раствор BD FACS («Becton Dickinson», США).

Концентрацию ИФН-α, ИФН-γ и ИЛ-28В определяли на базе лаборатории онтогенеза и коррекции системы интерферона ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России (зав. — проф. В.В. Малиновская) методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов производства eBioscience из одной партии. При этом оптическую плотность проб измеряли на микропланшетном фотометре Anthos 2020 («Anthos Labtec Instruments GmbH», Австрия) при длине волны 450 нм с коррекцией 620 нм.

Математическую обработку данных осуществляли с помощью программы Statistica 8 («StatSoft Inc»). Множественные межгрупповые сравнения независимых выборок проводили с использованием критерия Краскела—Уоллиса, парные сравнения независимых выборок — критериев Данна и Манна—Уитни. При анализе связи переменных рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена. Нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

Количественные данные представляли в виде медианы (Me) с указанием 25-го и 75-го процентилей, а также в виде минимальных и максимальных (Min—Max) значений показателя.

Результаты

Таксономическая принадлежность возбудителя хронического гепатита статистически значимо не влияла на большинство изученных гематологических показателей: число эритроцитов, тромбоцитов, моноцитов, эозинофи-

лов, гематокрит, содержание гемоглобина в крови, средний объем эритроцитов и среднее содержание в них гемоглобина. Несмотря на некоторый тренд к снижению числа циркулирующих лейкоцитов у больных ХГВ — 5,3 [(4,1; 6,5); 3,1—9,1] · 10⁹/л в сравнении с группой здоровых доноров — 6,8 [(6,5; 7,3); 4,8—12,7] · 10⁹/л и пациентами с ХГС — 6,5 [(5,1; 8,1); 1,0—13,9] · 10⁹/л, математическая обработка с использованием критериев множественного и парного сравнения не выявила межгрупповых различий по этому показателю.

Вместе с тем установлены различия между указанными группами по относительному количеству лимфоцитов в периферической крови (рис. 1, а). Их доля среди циркулирующих лейкоцитов у больных ХГС и особенно у пациентов с ХГВ превосходила таковую у клинически здоровых лиц. В рамках множественного сравнения не установлено различия между больными ХГС и ХГВ по этому показателю (критерий Данна), однако сравнение указанных двух групп с использованием критерия Манна—Уитни выявило статистически значимое превышение относительного числа лимфоцитов у больных ХГВ.

Наоборот, относительное количество нейтрофилов в периферической крови у больных вирусными гепатитами существенно ниже, чем у здоровых доноров (см. рис. 1, б). Различий между пациентами с ХГС и ХГВ по доле нейтрофилов среди циркулирующих лейкоцитов не установлено.

Не выявлено принципиальной разницы между группами больных и здоровых доноров по числу субпопуляций лимфоцитов CD45⁺CD3⁺, CD45⁺CD3⁺CD8⁺, CD45⁺CD3⁺CD16⁺CD56⁺, CD45⁺CD3⁺CD16⁺CD56⁺ и CD45⁺CD19⁺, за исключением относительного числа клеток CD45⁺CD3⁺CD4⁺, которое у больных ХГС статистически значимо (критерий Манна—Уитни) превышало таковое у пациентов с ХГВ (рис. 2, а).

Доля циркулирующих лимфоцитов, экспрессирующих цепь 2 рецептора ИФН α/β (CD118), у больных ХГС и ХГВ примерно в 1,5 раза выше таковой у здоровых доно-

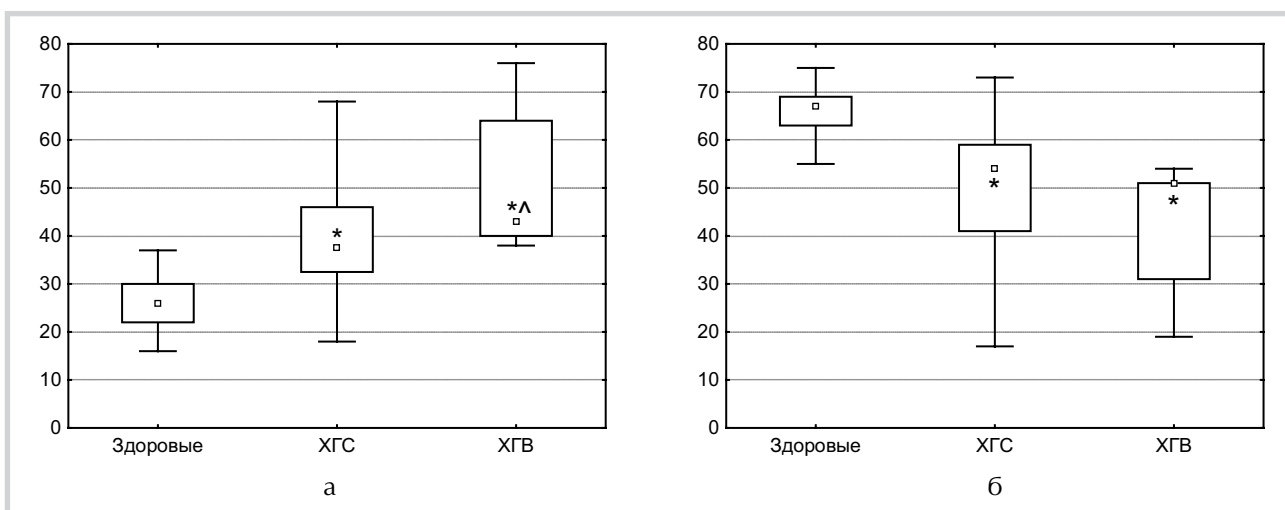


Рис. 1. Доля лимфоцитов (а) и нейтрофилов (б) среди лейкоцитов периферической крови больных ХГС и ХГВ.

Здесь и на рис. 2—5: данные представлены в виде «коробок» с «усами», отражающими Me (25-й перцентиль; 75-й перцентиль; Min—Max). Здесь и на рис. 3: при множественном сравнении: $p < 0,001$ (критерий Краскела—Уоллиса), при сравнении со здоровыми донорами: * — $p < 0,001$ (критерий Данна) или $p < 0,001$ (критерий Манна—Уитни). При сравнении с больными ХГС: ^ — $p = 0,135$ (критерий Данна) или $p = 0,027$ (критерий Манна—Уитни).

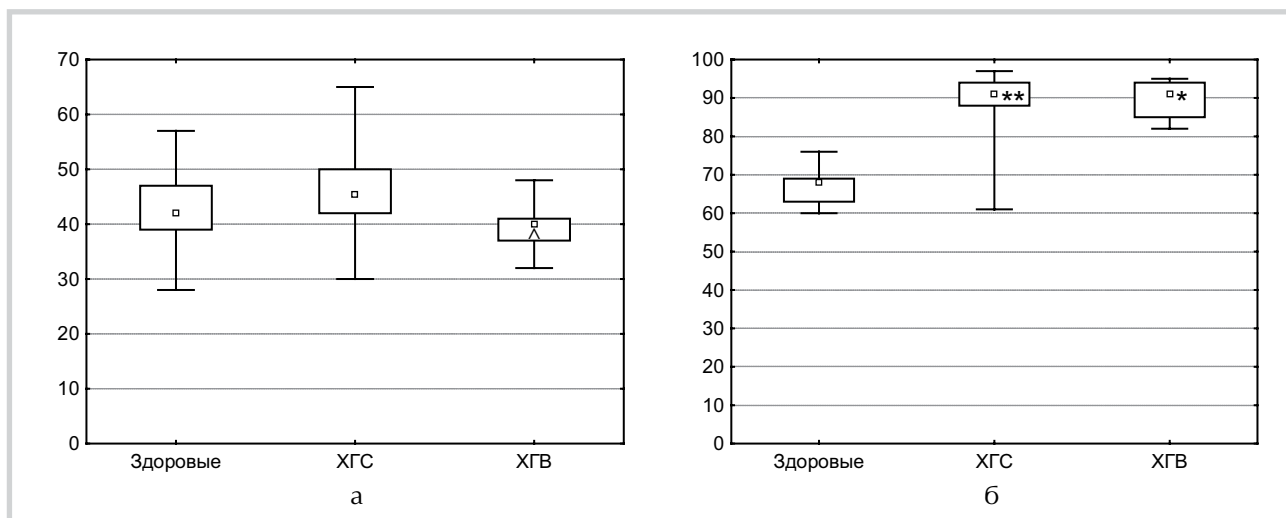


Рис. 2. Доля клеток CD45⁺CD3⁺CD4⁺ (а) CD118⁺ (б) и среди лимфоцитов периферической крови у больных ХГС и ХГВ. а: — при множественном сравнении: $p=0,017$ (критерий Краскела—Уоллиса), при сравнении с больными ХГС: ^ — $p=0,135$ (критерий Данна) или $p=0,027$ (критерий Манна—Уитни); б: при множественном сравнении: $p<0,001$ (критерий Краскела—Уоллиса), при сравнении со здоровыми донорами: * — $p=0,002$ (критерий Данна) или $p<0,001$ (критерий Манна—Уитни); ** — $p<0,001$ (критерий Данна) или $p<0,001$ (критерий Манна—Уитни).

ров (см. рис. 2, б). В абсолютных числах это различие было еще более значительным.

По экспрессии α -цепи рецептора ИФН- γ (CD119) лимфоцитами периферической крови больные ХГС — 83 (77; 86); 43—94% и ХГВ — 83 (70; 86); 32—89% — не различались между собой и со здоровыми донорами — 77 (73; 81); 68—91%.

Относительное число клеток CD119⁺ среди лимфоцитов CD4⁺ у больных ХГС было выше, чем у здоровых доноров (рис. 3). Статистически значимых различий между группами пациентов с ХГС и ХГВ по этому показателю не выявлено.

Уровни ИФН- α в сыворотке крови больных ХГС 7,2 (2,7; 10); 0—45,7 пг/мл и ХГВ 9,1 (4,5; 6,3); 0,8—43,1 пг/мл не различались, однако превышали соответствующие показатели у здоровых доноров.

Содержание ИФН- γ в сыворотке крови пациентов с ХГС — 2,94 (2,26; 4,62); 1,53—10,02 пг/мл и ХГВ — 3 (2,67; 3,94); 1,57—5,61 пг/мл также было примерно на одном уровне.

Медиана концентрации ИЛ-28В у больных ХГС 57,5 (47,2; 67,6); 8,2—119,6 пг/мл превышала почти в 2 раза таковую у пациентов с ХГВ — 34,2 (28,4; 55,5); 18,1—72,2 пг/мл, но разница математически не подтвердилась из-за высокой индивидуальной вариативности параметра.

Обнаружена прямая корреляция уровней ИФН- α и ИФН- γ ($R=0,35$; $p=0,036$).

Не уставлено различий по всем изученным показателям между больными ХГС и ХГВ с одинаковой степенью ФП. Отчасти это можно связать с ограниченным числом пациентов в пределах каждого кластера по выраженности ФП. В связи с этим проведен анализ зависимости гематологических и иммунологических показателей от степени ФП в объединенной выборке больных ХГС и ХГВ.

Не выявлено различий между кластерами больных с разной выраженностью ФП по большинству показателей клинического анализа крови, за исключением количества

лимфоцитов и нейтрофилов. Степень ФП диаметрально противоположно влияла на последние два показателя. Если относительное число лимфоцитов увеличивалось с прогрессированием ФП (рис. 4, а; $R=0,48$; $p=0,004$), то доля нейтрофилов среди циркулирующих лейкоцитов снижалась (см. рис. 4, б; $R=-0,64$; $p<0,001$). Оба гематологических показателя находились в сильной обратной корреляционной связи ($R=-0,94$; $p<0,001$).

Несмотря на отсутствие межкластерных отличий по числу тромбоцитов в периферической крови, установлена обратная корреляция этого показателя с выраженностью ФП ($R=-0,66$; $p<0,001$).

Множественные сравнения кластеров больных с разной степенью ФП по численности основных субпопуляций лимфоцитов различий не выявили. Следует выделить только субпопуляцию клеток CD45⁺CD3⁺CD16⁺CD56⁺

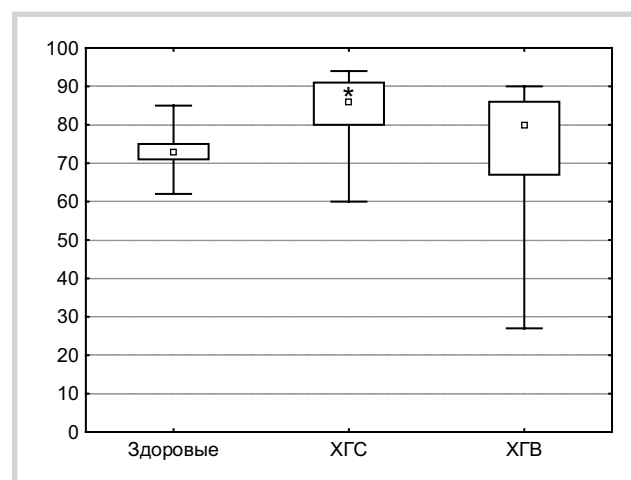


Рис. 3. Доля клеток CD119⁺ среди лимфоцитов CD4⁺ периферической крови больных ХГС и ХГВ.

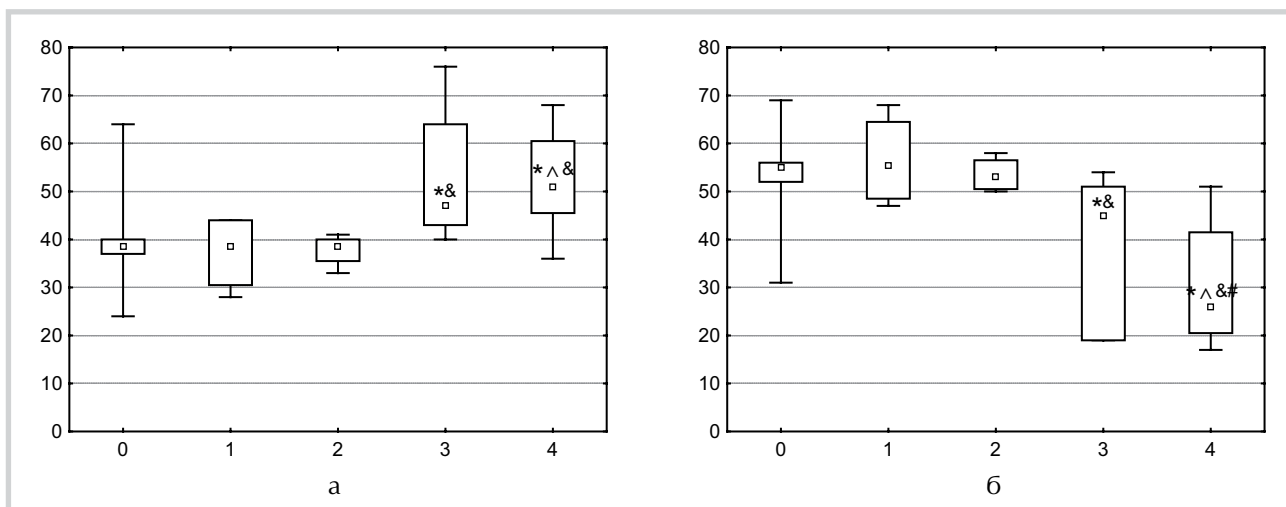


Рис. 4. Доля лимфоцитов (а) и нейтрофилов (б) среди лейкоцитов периферической крови у больных ХГС и ХГВ с разной степенью ФП.

Здесь и на рис. 4 и 5 по оси абсцисс — степень ФП. При множественном сравнении: $p=0,011$ (критерий Краскела—Уоллиса); $p<0,05$ при парном сравнении (критерий Манна—Уитни) с больными со степенью ФП 0 (*) или I (^) или II (&); а: $p<0,05$ при парном сравнении (критерий Манна—Уитни) с больными со степенью ФП 0 (*) или I (^) или II (&); б: # — $p=0,017$ при парном сравнении (критерий Данна) с больными со степенью ФП 0.

(NKT), относительное количество которых увеличивалось вместе с выраженностью ФП ($R=0,451$; $p=0,008$), вследствие чего обнаружено математически подтвержденное превышение этого показателя у больных с ФП IV степени по сравнению с таковым у пациентов с ФП степени 0 ($p=0,024$; критерий Манна—Уитни).

Различий между кластерами больных вирусными гепатитами с разной выраженностью ФП по доле клеток CD118 и CD119 среди циркулирующих лимфоцитов, а также по концентрациям ИФН- α , ИФН- γ и ИФН- $\lambda 3$ в сыворотке крови не установлено.

В рамках множественного сравнения не выявлено математически подтвержденной межкластерной гетерогенности по доле лимфоцитов CD4⁺CD119⁺ среди клеток CD45⁺ периферической крови (рис. 5). Однако при парном сравнении с использованием критерия Манна—Уитни выявлен более высокий уровень этого показателя у больных с ФП IV степени по сравнению с пациентами с ФП III степени.

Обсуждение

Выявленный лимфоцитоз при обоих этиологических вариантах хронического гепатита выглядит вполне ожидаемым, так как многие вирусные инфекции сопровождаются увеличением числа лимфоцитов. Положительная связь лимфоцитоза и выраженности ФП также закономерна. Степень лимфоцитоза и ФП считаются независимыми негативными предикторами ответа на лечение пегилированным ИФН- α и рибавирином. В этом отношении подтвержденные нами нейтропения и лимфоцитоз и их корреляция со степенью ФП у больных ХГС и ХГВ вполне укладываются в представления, сформулированные в ранее опубликованных работах. Так, М.-Т. Куо и соавт. [7] установили, что отношение числа нейтрофилов к числу лимфоцитов в периферической крови является предиктором эффективно-

сти лечения пегилированным ИФН- α и рибавирином. В свете того, что ФП увеличивает вероятность развития ГЦК, также следует привести данные литературы о прогностическом значении соотношения нейтрофилы/лимфоциты при различных вариантах лечения ассоциированных с HCV и HBV неопластических заболеваний печени [8, 9].

Можно предположить, что персистенция HCV и особенно HBV в лимфоцитах увеличивает пролиферативный потенциал и снижает уровень апоптоза этих клеток по аналогии с тем, что происходит при вирусной инфекции Эпштейна—Барр [6].

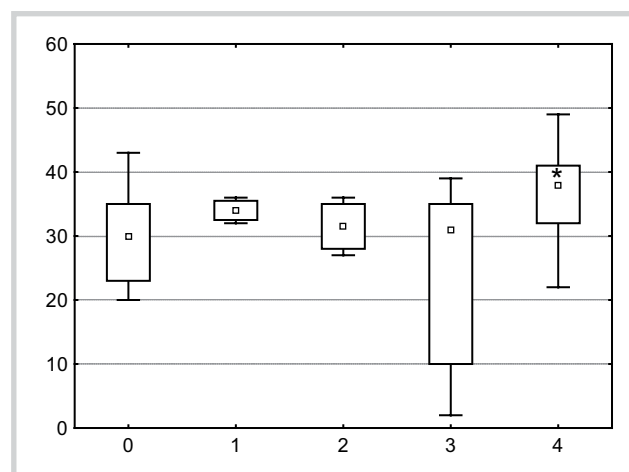


Рис. 5. Доля лимфоцитов CD4⁺CD119⁺ среди клеток CD45⁺ периферической крови у больных ХГС и ХГВ с разной степенью ФП.

При множественном сравнении: $p=0,156$ (критерий Краскела—Уоллиса). При парном сравнении: * — $p_{III-IV}=0,028$ (критерий Манна—Уитни) или $p_{III-IV}=0,216$ (критерий Данна).

Выявленная обратная связь числа тромбоцитов и степени ФП у больных ХГС и ХГВ согласуется с результатами исследований других авторов [10].

Заслуживают внимания данные о более низком уровне циркулирующих клеток CD3⁺CD4⁺ у больных ХГВ по сравнению с таковым у пациентов с ХГС. Это требует дополнительных исследований саногенетической/патогенетической роли данной популяции лимфоцитов при разных по этиологии формах хронического гепатита.

Корреляция относительного числа НКТ-клеток с выраженностью ФП не только мотивирует к дальнейшему изучению возможного профибротического действия этих клеток, но и представляет интерес в свете использования этого показателя как предиктора прогрессирования ХГС и ХГВ.

Различий по концентрациям ИФН- α , ИФН- γ и ИЛ-28В между кластерами больных с разной степенью ФП обнаружить не удалось. Данные литературы о прогностическом значении уровня ИЛ-28В в сыворотке крови противоречивы. А. Al-Qahtani и соавт. [11] установили прямую корреляцию концентрации ИЛ-28В с прогрессированием ХГС, в частности с развитием цирроза и ГЦК. Две независимые научные группы выявили более низкий уровень ИЛ-28В у лиц с вариантом rs12979860СС гена *IFNL3* [12, 13], благоприятным в плане прогноза ответа на лечение пегилированным ИФН- α и рибавирином [14], а также спонтанного выведения вируса из организма нелеченых больных гепатитом С [4]. В. Langhans и соавт. [15], наоборот, установили обратную зависимость концентрации ИЛ-28В и благоприятного аллеля СС этого гена. С результатами нашего исследования более сопоставимы данные другой работы [16], в которой не выявлено различий уровня ИЛ-28В у ответивших и не ответивших на противирусную терапию больных ХГС.

Выявленная прямая корреляция уровней ИФН- α и ИФН- γ вполне ожидаема, так как ИФН- α вместе с ИЛ-12 и ИЛ-18 поляризует дифференцировку наивных лимфоцитов CD4⁺ в направлении Т-хелперов 1-го типа, ключевым продуктом которых является ИФН- γ [17], а также усиливает продукцию этого цитокина НК-клетками и лимфоцитами CD8⁺ [18].

Значительное увеличение числа лимфоцитов CD118 при ХГС и ХГВ на фоне индуцированного вирусами увели-

чения уровня циркулирующего ИФН- α может отражать повышенную сопротивляемость лимфоцитов заражению HCV и HBV. Нами не выявлено связи между долей лимфоцитов, экспрессирующих цепь 2 рецептора ИФН α/β , и выраженностью ФП, что противоречит данным Д.В. Донцова и соавт. [19], которые продемонстрировали корреляцию экспрессии CD118 лимфоцитами со степенью ФП и рассматривали этот показатель как предиктор прогрессирования ХГС.

Отдельного внимания заслуживает увеличение доли лимфоцитов CD4⁺CD119⁺ среди клеток CD45⁺ периферической крови при прогрессировании ФП от III к IV степени. На фоне неизмененного уровня циркулирующего ИФН- γ рост числа клеток CD4⁺, экспрессирующих рецептор этого цитокина, должен *a priori* сопровождаться большей чувствительностью указанной субпопуляции лимфоцитов к ИФН- γ . Вместе с тем это может быть косвенным свидетельством патогенетической (профибротической) роли ИФН- γ , который до сих пор рассматривался главным образом в защитном (противовирусном и антифибротическом) контексте как при ХГВ [20], так и ХГС [21]. Способность этого цитокина стимулировать ФП описана ранее только на моделях мышей *in vivo* [22].

Нуждается в осмыслении и более высокая доля клеток CD119⁺ среди лимфоцитов CD4⁺ в периферической крови у пациентов с ХГС по сравнению с таковой у больных ХГВ и здоровых доноров.

Заключение

Выявлено несколько новых клинико-лабораторных закономерностей и уточнены характер и степень ранее описанных гематологических и иммунологических сдвигов у больных ХГС и ХГВ при разной степени ФП. Некоторые показатели могут быть использованы в качестве дополнительных критериев прогноза течения указанных форм гепатита, а ряд вновь описанных фактов свидетельствует о необходимости пересмотра защитного/флогогенного значения ИФН I, II и III типов при хронических вирусных гепатитах С и В.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Yang Y, Zhou Y, Hou J, Bai C, Li Z, Fan J, Ng IO, Zhou W, Sun H, Dong Q, Lee JM, Lo CM, Man K, Yang Y, Li N, Ding G, Yu Y, Cao X. Hepatic IFIT3 predicts interferon- α therapeutic response in patients of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2017. <https://doi.org/10.1002/hep.29156>
- Boisvert M, Shoukry NH. Type III interferons in hepatitis C virus infection. *Front Immunol*. 2016;7:628. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00628>
- Lin Z, Zhang J, Ma X, Yang S, Tian N, Lin X, Zhou S, Liu L, Gao Y. The Role of Interferon Lambda 3 Genetic Polymorphisms in Response to Interferon Therapy in Chronic Hepatitis B Patients: An Updated Meta-Analysis. *Hepat Mon*. 2016;16(7):e37534. <https://doi.org/10.5812/hepatmon.37534>
- Tillmann HL, Thompson AJ, Patel K, Wiese M, Tenckhoff H, Nischalke HD, Lokhnygina Y, Kullig U, Göbel U, Capka E, Wiegand J, Schiefke I, Güthoff W, Grüngreif K, König I, Spengler U, McCarthy J, Shianna KV, Goldstein DB, McHutchison JG, Timm J, Nattermann J; German Anti-D Study Group. A polymorphism near IL28B is associated with spontaneous clearance of acute hepatitis C virus and jaundice. *Gastroenterology*. 2010;139:1586-1592. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.07.005>
- Chen CL, Huang JY, Wang CH, Tahara SM, Zhou L, Kondo Y, Schechter J, Su L, Lai MM, Wakita T, Cosset FL, Jung JU, Machida K. Hepatitis C virus has a genetically determined lymphotropism through co-receptor B7.2. *Nat Commun*. 2017;8:13882. <https://doi.org/10.1038/ncomms13882>
- Sinha M, Rao CR, Premalata CS, Shafiulla M, Lakshmaiah KC, Jacob LA, Babu GK, Viveka BK, Appaji L, Subramanyam JR. Plasma Epstein-Barr virus and Hepatitis B virus in non-Hodgkin lymphomas: Two lymphotropic, potentially oncogenic, latently occurring DNA viruses. *Indian J Med Paediatr Oncol*. 2016; 37(3):146-151. <https://doi.org/10.4103/0971-5851.190353>

7. Kuo M-T, Hu T-H, Lu S-N, Hung CH, Wang J-H, Chen C-H, Chiu Y-C, Lee C-M. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as a predictor of response to peginterferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Disease Markers*. 2014;2014:462958. <https://doi.org/10.1155/2014/462958>
8. Gomez D, Farid S, Malik H Z, Young AL, Toogood GJ, Lodge JPA, Prasad KR. Preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio as a prognostic predictor after curative resection for hepatocellular carcinoma. *World Journal of Surgery*. 2008;32(8):1757-1762. <https://doi.org/10.1007/s00268-008-9552-6>
9. Chen T-M, Lin C-C, Huang P-T, Wen C-F. Neutrophil-to-lymphocyte ratio associated with mortality in early hepatocellular carcinoma patients after radiofrequency ablation. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2012;27(3):553-561. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2011.06910.x>
10. Karasu Z, Tekin F, Ersoz G, Gunsar F, Batur Y, Ilter T, Akarca US. Liver fibrosis is associated with decreased peripheral platelet count in patients with chronic hepatitis B and C. *Dig Dis Sci*. 2007;52(6):1535-1539. <https://doi.org/10.1007/s10620-006-9144-y>
11. Al-Qahtani A, Al-Anazi M, Abdo AA, Sanai FM, Al-Hamoudi W, Alswat KA, Al-Ashgar HI, Khan MQ, Albenmoussa A, Khalaf Nisreen, Viswan N, Al-Ahdal MN. Correlation between genetic variations and serum level of interleukin 28B with virus genotypes and disease progression in chronic hepatitis C virus infection. *Journal of Immunology Research*. 2015;2015:768470. <https://doi.org/10.1155/2015/768470>
12. Depla M, Pelletier S, Bedard N, Brunaud C, Bruneau J, Shoukry NH. IFN-lambda3 polymorphism indirectly influences NK cell phenotype and function during acute HCV infection. *Immun Inflamm Dis*. 2016;4:376-388. <https://doi.org/10.1002/iid3.122>
13. Dolganiuc A, Kodys K, Marshall C, Saha B, Zhang S, Bala S, et al. Type III interferons, IL-28 and IL-29, are increased in chronic HCV infection and induce myeloid dendritic cell-mediated FoxP3+ regulatory T cells. *PLoS One*. 2012;7:e44915. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044915>
14. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna KV, Urban TJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature*. 2009;461:399-401. <https://doi.org/10.1038/nature08309>
15. Langhans B, Kupfer B, Braunschweiger I, Arndt S, Schulte W, Nischalke HD, et al. Interferon-lambda serum levels in hepatitis C. *J Hepatol*. 2011;54:859-865. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2010.08.020>
16. Torres C, Brahm J, Venegas M. Lambda interferon serum levels in patients with chronic hepatitis C virus infection according to their response to therapy with pegylated interferon and ribavirin. *J Interferon Cytokine Res*. 2014;34:106-110. <https://doi.org/10.1089/jir.2013.0005>
17. Nguyen KB, Watford WT, Salomon R, Hofmann SR, Pien GC, Morinobu A, Gadina M, O'Shea JJ, Biron CA. Critical role for STAT4 activation by type I interferons in the interferon-gamma response to viral infection. *Science*. 2002;297:2063-2066. <https://doi.org/10.1126/science.1074900>
18. Pien GC, Nguyen KB, Malmgaard L, Satsoskar AR, Biron CA. A unique mechanism for innate cytokine promotion of T cell responses to viral infections. *J Immunol*. 2002;169:5827-5837. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.169.10.5827>
19. Донцов Д.В., Романова Е.Б., Амбалов Ю.М. Метод альтернативного анализа Вальда как способ прогноза прогрессирования заболевания у больных хроническим гепатитом С. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2011;4(127):69-71. Ссылка активна на: 21.05.2017. Доступно по: <http://cyberleninka.ru/article/n/metod-alternativnogo-analiza-valda-kak-sposob-prognoza-progressirovaniya-zabolevaniya-u-bolnyh-hronicheskim-gepatitom-s> [Dontsov DV, Romanova EB, Ambalov YuM. The method of alternative analysis Wald for prognosis progression of disease in patients with chronic hepatitis C. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 2011;4(127):69-71. Accessed May 21, 2017. Available at: <http://cyberleninka.ru/article/n/metod-alternativnogo-analiza-valda-kak-sposob-prognoza-progressirovaniya-zabolevaniya-u-bolnyh-hronicheskim-gepatitom-s>]
20. Weng HL, Wang BE, Jia JD, Wu WF, Xian JZ, Mertens PR, Cai WM, Dooley S. Effect of interferon-gamma on hepatic fibrosis in chronic hepatitis B virus infection: a randomized controlled study. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005;3(8):819-828. [Weng HL, Wang BE, Jia JD, Wu WF, Xian JZ, Mertens PR, Cai WM, Dooley S. Effect of interferon-gamma on hepatic fibrosis in chronic hepatitis B virus infection: a randomized controlled study. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2005;3(8):819-828. (In Russ.)] [https://doi.org/10.1016/s1542-3565\(05\)00404-0](https://doi.org/10.1016/s1542-3565(05)00404-0)
21. Muir AJ, Sylvestre PB, Rockey DC. Interferon gamma-1b for the treatment of fibrosis in chronic hepatitis C infection. *J Viral Hepat*. 2006;13(5):322-328. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2005.00689.x>
22. Knight B, Lim R, Yeoh GC, Olynyk JK. Interferon-gamma exacerbates liver damage, the hepatic progenitor cell response and fibrosis in a mouse model of chronic liver injury. *J Hepatol*. 2007;47(6):826-833. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2007.06.022>

Поступила 26.05.17