

Повышение ИЛ6, выявленное нами у больных ОВГВ, может быть связано с повышением пролиферативной активности гепатоцитов [7—9].

ИЛ1 β является основным активатором лимфоцитов, в том числе и цитотоксических [7], поэтому его низкий уровень в сыворотке крови или отсутствие свидетельствуют о невозможности полноценного клеточного ответа. Вероятно, больные, не имеющие повышения ИЛ1 β , являются претендентами на исход острого гепатита в хронический или на возникновение первично хронического гепатита.

Заключение

Таким образом, анализ полученных данных показывает, что ОВГВ у детей сопровождается изменением баланса цитокинов провоспалитель-

ной и противовоспалительной направленности. Эти изменения выражаются как повышением содержания основных факторов межклеточных взаимодействий, так и нарушением их выработки. Уровни цитокинов и в меньшей степени частота их выявления различаются в зависимости от сроков болезни. Динамика уровней провоспалительных и противовоспалительных цитокинов подтверждает взаимосвязь реакции неспецифической резистентности и механизмов приобретенного иммунитета. Нарушение функционирования системы регуляторных цитокинов может быть одним из механизмов развития неблагоприятных исходов ОВГВ (возникновение острой печеночной недостаточности, формирование первично хронических и хронических форм и/или перехода в цирроз печени и гепатокарциному).

ЛИТЕРАТУРА

См. online-версию журнала <http://www.pediatrjournal.ru> № 6/2004, приложение № 4.

© Коллектив авторов, 2004

*Н.В. Рогозина, А.А. Мукомолова, Л.Г. Горячева,
И.В. Тихомирова, О.А. Аксенов, М.П. Грудинин, А.А. Колобов*

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОСТРОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С У ДЕТЕЙ

НИИ детских инфекций МЗ РФ, НИИ гриппа РАМН, С.-Петербург

Обследовано 29 детей, больных острым вирусным гепатитом С (ВГС), с целью выявления критериев дифференциальной диагностики между острой и хронической фазой заболевания. Манифестная форма регистрировалась у детей преимущественно подросткового возраста, в 62% случаев отмечались желтушные и отсутствовали тяжелые холестатические варианты заболевания. У всех детей выявлялись суммарные анти-НСV и РНК вируса, в 80% случаев — антитела класса Ig G к ядерному белку и в 54,3% — антитела класса IgM, в 60% — антитела к неструктурным белкам NS3 и в 20% — к NS4 и NS5. Авидность антител к ядерному белку вируса колебалась в пределах 18—39%. В 37,9% случаев заболевание закончилось выздоровлением с полным восстановлением функционального состояния печени, нормализацией трансаминаз, отсутствием РНК НCV с потерей анти-НСV у 3 больных. В 62% случаев сформировался хронический гепатит с сохранением нарушений функции печени и выявлением суммарных анти-НСV. Критерии выздоровления от ВГС: полное восстановление функционального состояния печени с нормализацией трансаминаз, отсутствием РНК НCV, антител к ядерному белку класса IgG и наличие только антител к неструктурному белку NS4 с низким уровнем их avidности в сыворотке крови.

Authors examined 29 children with acute hepatitis C in order to outwork the criteria of acute and chronic stage differential diagnosis. Manifest onset occurred in adolescents in prevalence; jaundice variant was diagnosed in 62% of cases and there were no severe cholestatic variants of disease. Amount anti-HCV and viral RNA were detected in all patients, IgG-antibodies to nuclear protein — in 80% of cases, IgM- antibodies — in 54,3% of cases, antibodies to non-structural proteins class NS3 — in 60% of cases and to NS4 and NS5 — in 20% of cases. Avidity of antibodies to nuclear viral protein varied between 18—39%. Recovery with complete normalization of hepatic functional state, normalization of aminotransferases activity and absence of HCV RNA occurred in 37,9% of cases (including loss of anti-HCV in 3 cases). 62% of patients formed chronic hepatitis with persistent disorders of hepatic functions and with presence of amount anti-HCV. So criteria of recovery in cases of hepatitis C are: complete normalization of hepatic functional state with normalization of aminotransferases activity, absence of

RNA-HCV and absence of IgG- antibodies to nuclear protein and presence of antibodies to non- structural protein NS4 with low level of avidity only.

Вирусные гепатиты (ВГ) являются серьезной проблемой всех стран мира [1]. Среди «парентеральных» гепатитов особую роль играет вирусный гепатит С (ВГС), заболеваемость которым в Санкт-Петербурге превышает показатели по России в 4 раза [2]. В возрастной структуре заболеваемости ВГС у детей лидирующее положение занимают дети старше 10—14 лет, что связано с проблемой наркомамии лиц молодого возраста. Основную клиническую форму ВГС представляет хронический гепатит, хотя регистрируются и острые формы заболевания [3].

В последние годы установлены критерии дифференциальной диагностики между острой и хронической фазой вирусного гепатита В, а у больных ВГС они остаются недостаточно разработанными.

Целью настоящей работы явились изучение особенностей клиники острого ВГС у детей и разработка критериев дифференциальной диагностики острой и хронической фазы заболевания с использованием иммуноферментного анализа (ИФА).

Материалы и методы исследования

Обследовано 29 больных острым ВГС. Среди заболевших было 16 мальчиков и 13 девочек. Манifestные формы заболевания регистрировались преимущественно у детей 12—15 лет (93,1%). Его течение мало отличалось от такового у взрослых. По анамнестическим данным у большинства пациентов нельзя было исключить половой путь передачи вируса, а также заражение при внутривенном введении наркотиков (рис. 1).

Обследование детей проводили по общепринятой схеме больного ВГ: клинический осмотр, биохимическое исследование с применением рутинных методик (установление уровня АЛТ, АСТ, билирубина, щелочной фосфатазы), серологический (выявление суммарных анти-HCV,

антител классов IgM и IgG к ядерному белку, белкам NS3, NS4, NS5 с определением их avidности) и вирусологический (индикация РНК вируса) мониторинг. Для обнаружения суммарных анти-HCV и спектра антител к белкам ВГС применяли коммерческие иммуноферментные тест-системы, производимые НПО «Аквапаст».

В основе используемой нами методики лежит модифицированный метод определения avidности антител, разработанный Pullen С.Р. [4]. Он заключается в том, что в обойму помещают 2 стрипа с адсорбированными пептидами ядерного белка вируса гепатита С (С21) или пептидами неструктурного белка NS4 (NS645). Опыт проводится в 2 параллельных рядах, но на стадии связывания антител один ряд промывают трехкратно 6М мочевиной, избирательно разрушающей слабые связи между антигеном и антителом, и дважды фосфатно-солевым буферным раствором с твином, а второй (контрольный) ряд — 5 раз только фосфатно-солевым буферным раствором с твином. Расчет avidности антител проводят по формуле:

$$A = \frac{\text{ОП пробы, обработанной раствором 6М мочевины}}{\text{ОП пробы без обработки раствором мочевины}} \cdot 100,$$

где ОП — оптическая плотность.

Avidность антител характеризует силу связывания их с антигенными детерминантами вируса. Экспериментально показано, что антитела класса IgG, появляющиеся на ранних сроках инфекции, обладают низкой avidностью.

РНК вируса гепатита С определяли в полимеразной цепной реакции с использованием реактивов Amplicor HCV (Hoffman La Roche, Швейцария).

Диагноз хронического гепатита (ХГ) устанавливали в соответствии с классификацией ХГ (1994). Учитывая, что срок заболевания не превышал 2 лет, пункционную биопсию этим детям не проводили, а структурные нарушения печени основывались на результатах ультразвукового исследования аппаратом Sonoline Versa Plus (Simenes).

Результаты и их обсуждение

У наблюдавшихся детей заболевание, как правило, начиналось постепенно. Продромальный период имел место у 13 обследованных (44,8%) и характеризовался преимущественно астеновегетативными и диспепсическими явлениями (снижение аппетита, нарастание слабости, головные боли). У 4 детей отмечались артралгии, у 2 — повышение температуры тела до 38°C и выше.

В наших наблюдениях регистрировались только легкие (41,4%) и среднетяжелые (58,6%) формы заболевания. У 18 (62%) больных отмечены желтушные, у 11 (37,9%) — безжелтушные варианты ВГС. Даже при манифестном течении болезни клинические проявления были незначительными. Признаки интоксикации регистрировались у 43,7±12,9% больных (ухудшение самочувствия, вялость, слабость и отсутствие аппетита). Более чем у половины больных отмечались тяжесть, неприятные ощущения в правом подреберье, а также боли в животе. При объективном осмотре выявля-

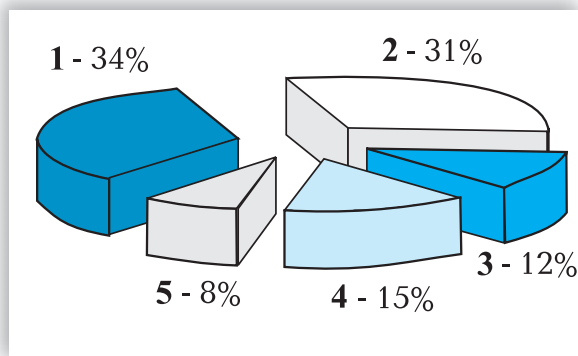


Рис. 1. Структура источников инфицирования детей с острой HCV-вирусной инфекцией.

1 — половой путь; 2 — внутривенное введение наркотиков; 3 — оперативное вмешательство; 4 — источник не установлен; 5 — гемо-, плазматрансфузии.

Таблица

Биохимические показатели у больных острым ВГС

Показатели	Форма заболевания				Норма
	желтушная (n=18)		безжелтушная (n=11)		
	легкая форма (n=6)	среднетяжелая форма (n=12)	легкая форма (n=6)	среднетяжелая форма (n=12)	
Билирубин, мкмоль/л · ч: общий	50,2±5,1	124,7±26,3	7,5±0,3	10,8±0,1	12,0±0,6
конъюгированный	25,6±5,6	57,6±9,4	—	—	—
АЛТ, ЕД/л	1234±21,2	2740±43,6	1012±8,3	2136±17,4	25,0±0,28
АСТ, ЕД/л	846±11,1	2430±10,6	436±5,8	1655±14,8	25,0±0,28
Щелочная фосфатаза, ЕД	2,47±2,4	3,08±4,7	2,04±0,6	3,2±4,8	0,9±0,3

лась выраженная гепатомегалия, причем у 33,3% детей печень выступала из-под реберной дуги на 3—4 см, чаще без сочетанного увеличения размеров селезенки. Желтуха сохранялась от 6 до 14 дней. Холестатических форм заболевания выявлено не было.

Показатели функциональных проб печени соответствовали выраженности синдрома цитолиза. Степень гиперферментемии значительно варьировала — от 10- до 20-кратного увеличения (в сравнении с нормой) — и имела волнообразный характер. При желтушном варианте заболевания гиперферментемия сопровождалась нарастанием уровня билирубина в среднем в 2 раза при легкой, в 6 раз и более — при среднетяжелой форме заболевания (см. таблицу).

У всех больных определялись суммарные анти-HCV и РНК вируса, в 80% случаев — антитела класса IgG к ядерному белку, в 54,3% — антитела класса IgM. В то же время антитела к неструктурным белкам выявлялись реже: к NS3 — в 60%, а к NS4 и NS5 — лишь в 20%. При этом регистрировалась как низкая частота их выявления в сыворотке крови, так и низкая оптическая плотность в ИФА. Показатель avidности антител к ядерному белку вируса только у 2 больных из 29 достигал 54% и 68%, а во всех остальных случаях колебался в пределах 18—39% (32,7±10,7%) (рис. 2).

У 11 (37,9%) из 29 детей (у 4 больных после безжелтушного и у 7 — после желтушного острого ВГС) заболевание закончилось полным восстановлением функционального состояния печени при отсутствии РНК вируса в сыворотке крови, но продолжали регистрироваться анти-HCV.

В настоящее время не существует одного или двух критериев выздоровления от ВГС [1, 3, 5]. Периоду ранней реконвалесценции острого ВГС большей частью соответствует нормализация трансаминаз, хотя уровень АЛТ не может являться таким критерием, так как умеренная гиперфермен-

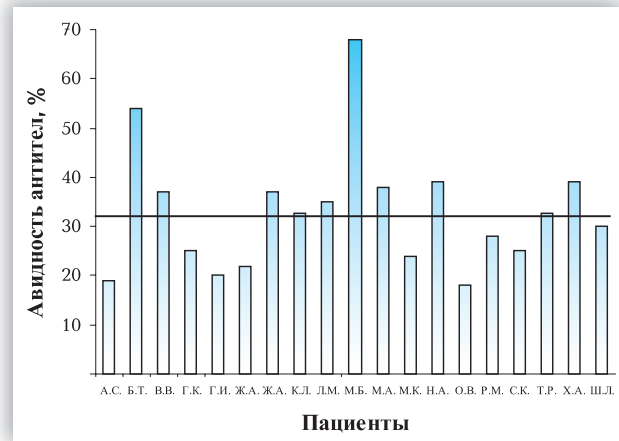


Рис. 2. Уровень avidности антител к ядерному белку вируса гепатита С у наблюдаемых больных. — усредненный уровень антител (32,7%).

темия нередко сохраняется и после исчезновения РНК HCV, свидетельствуя о продолжении воспалительного процесса в печени. И, наоборот, часто при отсутствии гиперферментемии отмечается наличие РНК вируса гепатита С. Следует также учесть, что отсутствие РНК вируса может быть временным. По мнению Т.В. Чередниченко с соавт. [6], для прогнозирования течения и исходов острого ВГС именно эти два критерия имеют большое значение. При выздоровлении от острого ВГС РНК вируса гепатита С исчезает в сыворотке крови, а при хронизации процесса продолжает выявляться. В связи с этим по индикации РНК вируса гепатита С достоверно можно судить только о наличии ВГС как острого, так и хронического, но дифференцировать их между собой не представляется возможным. Динамика анти-HCV также мало информативна и не характеризует ни окончание, ни продолжение инфекционного процесса при HCV-инфекции, поскольку они могут выявляться даже при благо-

приятном исходе острого ВГС в течение длительного времени. По данным литературы, этот период может длиться от 1 до 7 лет [2, 3]. В данном исследовании анти-HCV перестали определяться в 10,3% случаев после острого ВГС (только у 3 больных).

Нами доказана значимость другого методического подхода — определение антител класса IgG к ядерному белку, белкам NS3, NS4, NS5 и их avidности, — который еще не имеет широкого распространения в практическом здравоохранении.

При оценке спектра антител IgG к белкам вируса установлено, что в период ранней реконвалесценции острого ВГС в 60%, а через год в 9% случаев определялись антитела к ядерному белку. Кроме того, в сыворотке крови выявлялись антитела к неструктурным белкам NS3, NS4 и NS5, имеющие низкую оптическую плотность, средний уровень avidности антител не отличался от этого показателя в острый период.

У 18 (62%) детей длительная умеренная гиперферментемия сохранялась и после выписки из стационара и заболевание приняло хроническое течение. По клинико-лабораторным данным эта группа была также неоднородна. В 22,2% случаев регистрировалась латентная фаза заболевания. Активность трансаминаз не превышала норму более чем в 2 раза. Все больные имели суммарные анти-HCV и антитела к NS3 и NS4, антитела к NS5 и IgM анти-ВГС core присутствовали только у одного ребенка. Показатель avidности был низким у всех больных и в среднем составлял $21,8 \pm 4,6\%$. РНК вируса не определялась ни у одного больного.

Фаза репликации констатирована в 77,8% случаев (у 14 больных). Несмотря на то что клинические симптомы ХГС выявлялись только у 64,2% детей, они встречались в 5—7 раз чаще в сравнении с пациентами с латентной фазой инфекции. Гепатомегалия регистрировалась в 100% случаев, печень чаще выступала более чем на 2 см, была средней плотности, иногда с заостренным краем, что свидетельствует о наличии выраженных и стойких нарушений функции печени. У всех больных выявлялись суммарные анти-HCV, тогда как анти-ВГС core IgM — в 44,6% случаев. Антитела к NS3, NS4, NS5 определялись в среднем у 93,3% больных, показатель avidности был высоким и составлял в среднем 78% (см. рис. 2).

Важность определения антител к ядерному белку класса IgM при ВГС, по данным различных исследователей, не однозначна. Так, некоторые авторы [3, 7] считают, что высокий уровень IgM указывает на наличие острой фазы этого заболевания. Другие исследователи [8] полагают, что этот показатель не имеет значения для разграничения стадий инфекционного процесса при ВГС, что подтверждается и нашими исследованиями. Антитела класса IgM к ядерному белку мы регистрировали не только у детей, больных острым ВГС, но и

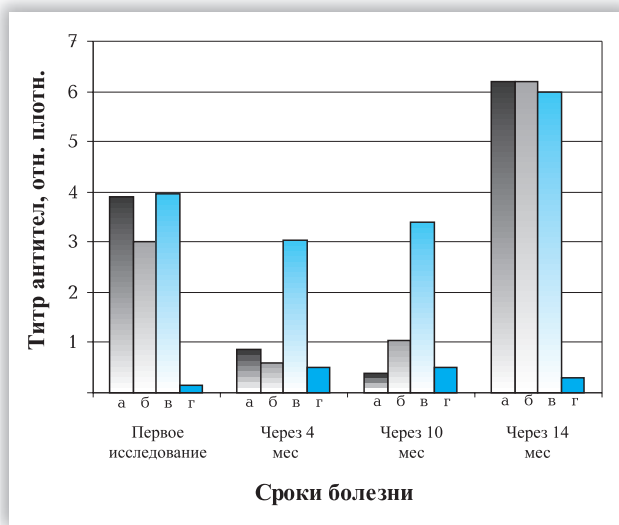


Рис. 3. Динамика спектра антител к белкам вируса гепатита С у больного Максима Р., 14 лет. а — core, б — NS3, в — NS4, г — NS5.

у больных ХГС, как в фазу репликации (у 44,6%), так и в латентную (у 25%). Однако полученные результаты пока являются предварительными и нуждаются в дополнительном уточнении.

Инструментальные исследования (УЗИ), проведенные больным ХГС, показали наличие у всех больных неоднородности эхоструктуры печени, повышения ее эхоплотности без поражения сосудов. В 16,6% случаев отмечались изменения со стороны желчевыделительной системы в виде утолщения и уплотнения стенок желчных ходов и пузыря.

Примером неблагоприятного исхода острого ВГС является течение болезни пациента Максима Р., 14 лет. Наблюдение за этим больным показало, что острая инфекция завершилась формированием ХГ (рис. 3). При первичном обследовании выявлен невысокий уровень антител к ядерному белку, NS3 и NS4 белкам. Через 4 месяца уровень суммарных антител резко снизился, перестали определяться антитела к ядерному белку и белку NS3, хотя антитела к белку NS4 продолжали оставаться на том же уровне, а через 14 месяцев картина спектра антител полностью соответствовала таковой у больных с хронической инфекцией. Уровень avidности антител в течение наблюдения нарастал с 50% до 98%.

Представленный случай свидетельствует о прогностической значимости динамического наблюдения не только за активностью трансаминаз и РНК вируса, но и за уровнем антител класса IgG к ядерному белку, белкам NS3, NS4, NS5 и их avidностью.

Заключение

Таким образом, выздоровление после острого ВГС регистрировалось у 37,9%, тогда как у 62,1% пациентов отмечался переход в ХГ. Для уточнения диагноза и решения вопроса о завершении или про-

должении инфекционного процесса при ВГС наряду с клинико-биохимическим мониторингом целесообразно динамичное наблюдение за уровнем антител класса IgG к ядерному белку, белкам NS3, NS4, NS5 и их авидностью. Наличие антител к неструктурным белкам NS4 с низким уровнем их авидности в сыворотке крови является благоприятным прогностическим фактором.

ЛИТЕРАТУРА

1. Соринсон С.Н. Вирусные гепатиты в клинической практике. — СПб., 1996. — С. 145—152.
 2. Нисевич Н.И., Учайкин В.Ф., Гаспарян М.О. и др. // Патогенетические основы лечения острых инфекционных заболеваний. — М, 1999. — С. 251—259.
 3. Farci P., Shimoda A., Coiana A. et al. // Science. — 2000. — Vol. 288. — P. 339—344.
 4. Pullen C.P. // J. Immunol. Methods. — 1986. — Vol. 86, № 1. — P. 83—87.
 5. Учайкин В.Ф., Смирнов А.В., Чередниченко Т.В. // Эпидемиол. и инфекц. болезни. — 2000. — № 6. — С. 27—32.
 6. Чередниченко Т.В., Молочкова О.В., Баранова Е.Б. и др. // Педиатрия. — 2002. — Спец. вып. Инфекционные болезни. — С. 28—32.
 7. Мукомолов С.Л., Яковлев А.А., Колобов А.А. и др. // Вирусные гепатиты и другие актуальные инфекции. — Т. 1. — СПб., 1997. — С. 61—70.
 8. Вашукова М.А. Клиническое значение маркеров вирусного гепатита С в сыворотке крови и лимфоцитах при различных формах заболевания: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. — СПб., 2001. — 19 с.
-