

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 616.36-031.63]:616.36-002.2:616-092:612.017.1

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКИ АВТОІМУННИХ ПОРУШЕНЬ З НАЯВНІСТЮ ТА СТУПЕНЕМ ВИРАЗНОСТІ ЗМІШАНОЇ КРІОГЛОБУЛІНЕМІЇ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С

Ю.Ю. Рябоконт

Запорізький державний медичний університет, м.Запоріжжя, Україна

Частота виявлення органонеспецифічних аутоантител RF-IgM та RF-IgG, кардіоліпіна IgM та кардіоліпіна IgG у хворих на хронічний гепатит С збільшується при появі та прогресуванні ознак змішаної кріоглобулінемії. Найбільший якісний вміст RF-IgM та RF-IgG у сировотці крові хворих на хронічний гепатит С з наявністю маніфестації клінічних проявів кріоглобулінемічного синдрому, порівняно із пацієнтами, котрі не мають клініко-біохімічних проявів або мають тільки біохімічні ознаки змішаної кріоглобулінемії.

Ключові слова: хронічний гепатит С, змішана кріоглобулінемія, аутоімунні порушення.

ВЗАИМОСВЯЗИ АУТОИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ С НАЛИЧИЕМ И СТЕПЕНЬЮ ВЫРАЖЕННОСТИ СМЕШАННОЙ КРИОГЛОБУЛИНЕМИИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С

Ю.Ю. Рябоконт

Запорожский государственный медицинский университет, г. Запорожье, Украина

Частота выявления органонеспецифических аутоантител RF-IgM и RF-IgG, кардиолипина IgM и кардиолипина IgG у больных хроническим гепатитом С увеличивается при появлении и прогрессировании признаков смешанной кріоглобулинемии. Наиболее высокое количественное содержание RF-IgM и RF-IgG в сыворотке крови у больных хроническим гепатитом С с наличием манифестации клинических проявлений кріоглобулинемического синдрома, по сравнению с пациентами, которые не имеют клинико-биохимических проявлений или имеют только биохимические признаки смешанной кріоглобулинемии.

Ключевые слова: хронический гепатит С, смешанная кріоглобулинемия, аутоиммунные нарушения.

RELATIONSHIP OF AUTOIMMUNE DISORDERS WITH PRESENCE AND DEGREE OF MIXED CRYOGLOBULINEMIA MANIFESTATION IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C

Y.Y. Riabokon

Zaporizhzhya state medical university, Zaporizhzhya, Ukraine

The incidence of detection of organo-nonspecific RF-IgM and RF-IgG autoantibodies, cardiolipin IgM and cardiolipin IgG in patients with chronic hepatitis C increases in the appearance and progression of mixed cryoglobulinemia symptoms. The highest quantitative content of IgM-RF and RF-IgG is in the serum of patients with chronic hepatitis C with clinical manifestations of cryoglobulinemia syndrome, compared with patients who do not have clinical manifestations of mixed cryoglobulinemia.

Key words: chronic hepatitis C and mixed cryoglobulinemia, autoimmune disorders.

Вступ. Хронічному гепатиту С (ХГС) належить особлива роль у розвитку позапечінкових уражень, які підвищують ризик смертності. Це ствердження стосується як високої частоти цих проявів, так і особливостей їх спектра [1, 2]. Роль HCV як провідного етіологічного чинника є доказаною (наявність HCV-RNA в уражених тканинах, висока частота виявлення при HCV-інфекції) у розвитку змішаної кріоглобулінемії та обумовленого нею кріоглобулінемічного синдрому [3, 4].

Вважається, що у розвитку позапечінкових проявів провідну роль відіграють імунні реакції, що виникають у відповідь на реплікацію HCV не лише в печінці, а й поза нею. Головне значення в розвитку змішаної кріоглобулінемії при ХГС має лімфотропність вірусу з переважною його локалізацією у В-лімфоцитах [5, 6]. Результатом

взаємодії поверхневих антигенів HCV зі специфічними рецепторами CD81 на мембрані В-лімфоцитів є зниження порога їх активації та пригнічення апоптозу, внаслідок чого має місце моно- і поліклональна проліферація В-лімфоцитів із підвищеною продукцією автоантитіл, формуванням циркулюючих імунних комплексів (ЦІК), а також змішаних кріоглобулінів [7, 8]. Незважаючи на значну кількість досліджень, присвячених проблемі ХГС, роль автоімунних порушень у формуванні кріоглобулінемічного синдрому залишається недостатньо з'ясованою.

Мета дослідження. Визначити клініко-патогенетичну роль автоімунних порушень в розвитку кріоглобулінемічного синдрому у хворих на хронічний гепатит С.

Методи та матеріали. У дослідження було включено 214 хворих на ХГС, які лікувалися в гепатологічному

центрі комунальної установи “Обласна інфекційна клінічна лікарня”. Чоловіків було 123, жінок – 91. Вік хворих коливався від 19 до 60 років, у середньому склав $42,1 \pm 0,7$ роки. Всі пацієнти залучені в дослідження за випадковою ознакою та за інформованою згодою.

Для діагностики змішаної кріоглобулінемії спектрофотометричним методом визначали вміст змішаних кріоглобулінів у сироватці крові. Використовували методику, принцип якої полягає у вираховуванні різниці оптичної щільності розчину сироватки крові у буфері (рН=8,6) при 4°C та 37°C [9]. Залежно від наявності клініко-біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії були сформовані групи хворих на ХГС: I група - 51 хворих на ХГС, які не мали клініко-біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії; II група - 67 хворих на ХГС з наявністю лише біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії за відсутності її клінічних проявів; III група - 68 пацієнтів з наявністю біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії та окремих клінічних проявів кріоглобулінемічного синдрому (виражена загальна слабкість, артралгії); IV група - 28 пацієнтів з наявністю біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії та клінічної маніфестації геморагічного кріоглобулінемічного васкуліту.

Визначення вмісту в сироватці крові антинуклеарних антитіл (ANA) (MICROWELL ELISA, USA); ревматоїдного фактора IgM та IgG (ORGENTEC, Germany); кардіоліпіну IgM та IgG (MICROWELL ELISA,

USA); циркулюючих імунних комплексів (Hycult biotech, USA) проведено методом імуноферментного аналізу з використанням ELISA-наборів для кількісного виміру відповідно до методик, запропонованих виробниками. Всі спеціальні дослідження здійснені в Центральній науково-дослідній лабораторії Запорізького державного медичного університету (завідувач проф. Абрамов А.В., свідоцтво про атестацію № 039/14 від 25.06.2014 р.).

Статистичну обробку отриманих результатів досліджень здійснювали в програмі «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5). Результати досліджень представлені у вигляді Me ($Q_{25} - Q_{75}$), де Me – медіана, Q_{25} – нижній квантиль, Q_{75} – верхній квантиль. При порівнянні кількісних ознак в незалежних вибірках застосовували критерій Манна-Уїтні, для оцінки достовірності різниці якісних ознак між незалежними вибірками - метод хі-квадрат (χ^2), для оцінки ступеня зв'язку між ознаками - метод рангової кореляції Спірмена.

Результати та їх обговорення.

За результатами проведеного аналізу частоти виявлення позитивного ревматоїдного фактора (RF) в сироватці крові хворих на ХГС залежно від наявності та ступеня вираженості клініко-біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії показано, що частота виявлення RF-IgG була нижча у пацієнтів I групи, які не мали біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії, порівняно з хворими лише з біохімічними ознаками змішаної кріоглобу-

лінемії ($\chi^2=7,62$, $p=0,005$), так і з пацієнтами, у яких виявлялися окремі її клінічні ознаки ($\chi^2=17,80$, $p=0,00001$), та пацієнтів з клінічними проявами маніфестації геморагічного кріоглобулінемічного васкуліту ($\chi^2=7,80$, $p=0,005$). Слід зазначити, що за умов клінічної маніфестації ознак змішаної кріоглобулінемії частота виявлення RF-IgG становила 100 %. У хворих III та IV груп частота виявлення RF-IgM перевищувала аналогічний показник не лише у пацієнтів I групи, у яких не було ознак змішаної кріоглобулінемії ($\chi^2=16,70$, $p=0,00001$ та $\chi^2=10,20$, $p=0,0014$ відповідно), але й у хворих II групи, які мали біохімічні ознаки змішаної кріоглобулінемії за відсутності клінічних її проявів ($\chi^2=7,04$, $p=0,008$ та $\chi^2=5,20$, $p=0,02$ відповідно) (табл. 1).

Аналіз частоти виявлення кардіоліпіну показав наявність як кардіоліпіну IgM, так і кардіоліпіну IgG у певній кількості хворих всіх досліджуваних груп, проте найвища частота виявлення цих автоантитіл зафіксована у хворих IV групи, які мали клінічну мані-

фестацію геморагічного кріоглобулінемічного васкуліту з формуванням тріади Мельтцера. Частота підвищення вмісту кардіоліпіну IgG у хворих IV групи виявилася вищою, порівняно з аналогічним показником пацієнтів I групи ($\chi^2=10,20$, $p=0,0014$), II групи ($\chi^2=6,77$, $p=0,009$) та III групи ($\chi^2=4,26$, $p=0,04$). Крім того, у хворих IV групи частота виявлення підвищеного вмісту кардіоліпіну IgM була вірогідно вища, порівняно з хворими на ХГС без клініко-біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії ($\chi^2=10,30$, $p=0,0013$) і з пацієнтами, які мали лише біохімічні ознаки HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії ($\chi^2=5,90$, $p=0,015$). ANA виявлялися в сироватці крові пацієнтів всіх досліджуваних груп, проте порівняльний аналіз показав, що частота їх виявлення у хворих на ХГС не залежала ($p>0,05$) від наявності та ступеня вираженості змішаної кріоглобулінемії (табл. 1).

Порівняльний аналіз кількісного вмісту RF у хворих на ХГС залежно від наявності та ступеня вираже-

Таблиця 1.

Частота виявлення органонеспецифічних автоантитіл у хворих на ХГС залежно від наявності ознак змішаної кріоглобулінемії, абс. (%)

Показник	Хворі на ХГС (n=214)			
	I група (n=51)	II група (n=67)	III група (n=68)	IV група (n=28)
RF-IgM	36 (70,6)	56 (83,6)	66 (97,1)* ..	28 (100)* ..
RF-IgG	39 (76,5)	63 (94,0)*	68 (100)* ..	28 (100)*
Кардіоліпін IgM	19 (37,3)	32 (47,8)	37 (54,4)	21 (75,0)* ..
Кардіоліпін IgG	23 (44,1)	36 (53,7)	41 (60,3)	23 (82,1)* ..***
ANA	5 (9,8)	8 (11,9)	15 (22,1)	8 (28,6)

Примітки: 1. * - різниця достовірна порівняно з хворими на ХГС I групи ($p=0,001-0,00001$); 2. ** - порівняно з хворими II групи ($p=0,05-0,008$); 3. *** - порівняно з хворими III групи ($p=0,04$).

ності змішаної кріоглобулінемії показав, що маніфестація клінічних ознак змішаної кріоглобулінемії супроводжувалася найвищим рівнем як RF-IgM, так і RF-IgG. У пацієнтів III та IV груп кількісний вміст RF-IgM і RF-IgG в сироватці крові виявився достовірно вищим, порівняно з хворими I групи, які не мали клініко-біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії, а також порівняно з хворими II групи, які мали лише біохімічні ознаки HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії за відсутності її клінічних проявів. Слід зазначити, що прогресування клінічних проявів HCV-асоційованого кріоглобулінемічного синдрому супроводжувалося наростанням кількісного вмісту RF в сироватці крові. Так, у хворих IV групи, які мали ознаки HCV-асоційованого геморагічного кріоглобулінемічного васкуліту з формуванням тріади Мельтцера, кількісний вміст RF-IgM і

RF-IgG в сироватці крові були достовірно вищим за аналогічні показники пацієнтів III групи, які мали лише окремі клінічні прояви кріоглобулінемічного синдрому. Порівняння кількісного вмісту кардіоліпіну в сироватці крові хворих на ХГС залежно від наявності та ступеня вираженості змішаної кріоглобулінемії показав, що вміст кардіоліпіну IgM та IgG у хворих зі змішаною кріоглобулінемією достовірно вищий, ніж у пацієнтів з відсутністю біохімічних ознак цього позапечінкового прояву. За умов маніфестації HCV-асоційованого геморагічного кріоглобулінемічного васкуліту з формуванням тріади Мельтцера вміст кардіоліпіну IgM та IgG перевищував й відповідні показники у хворих II групи (табл. 2).

Збільшення частоти виявлення органонеспецифічних аутоантитіл і підвищення їх кількісного вмісту у хворих на ХГС при появі та прогресу-

Таблиця 2.

Вміст органонеспецифічних аутоантитіл у хворих на ХГС залежно від наявності та ступеня виразності змішаної кріоглобулінемії, Me (Q₂₅ – Q₇₅)

Показник	Хворі на ХГС (n=214)				
	Референтні значення	I група (n=51)	II група (n=67)	III група (n=68)	IV група (n=28)
RF-IgM, IU/ml	< 20	121,7 (18,1 – 167,9)	134,8 (69,8 – 175,2)	180,8 (131,1 – 229,7) * ..	263,1 (216,6 – 285,1) * .. ***
RF-IgG, IU/ml	< 20	127,5 (50,0 – 168,0)	132,7 (76,9 – 187,3)	199,9 (142,8 – 242,1) * ..	247,6 (187,9 – 305,3) * .. ***
Кардіо-ліпін IgM, MPL	< 15	12,8 (7,4– 17,1)	15,7 (11,6 – 22,4) *	18,4 (11,3 – 32,3) *	22,7 (16,3 – 29,5) * ..
Кардіо-ліпін IgG, MPL	< 10	9,1 (7,2– 18,9)	17,4 (7,8 – 27,4) *	18,4 (8,2 – 36,4) *	24,6 (12,8 – 29,5) * ..

Примітки: 1. * - різниця достовірна порівняно з хворими на ХГС I групи (p=0,001-0,00001); 2. ** - порівняно з хворими II групи (p=0,037-0,00001); 3. *** - порівняно з хворими III групи (p=0,009-0,0001).

суванні клініко-біохімічних ознак змішаної кріоглобулінемії поєднувалося з наростанням кількісного вмісту ЦІК в сироватці крові. У пацієнтів I групи, які не мали ознак змішаної кріоглобулінемії, вміст ЦІК у сироватці крові склав 218,6 (184,1 – 281,5) mAU/ml й виявився достовірно вищим ($p < 0,01$), ніж у здорових осіб контрольної групи – 184,8 (156,8 – 197,3) mAU/ml. У пацієнтів II групи, які мали лише біохімічні ознаки змішаної кріоглобулінемії без маніфестації її клінічних проявів, вміст ЦІК у сироватці крові склав 349,2 (258,3 – 485,6) mAU/ml й вірогідно перевищував ($p < 0,01$) аналогічний показник як здорових осіб, так і хворих I групи. Найвищий вміст ЦІК в сироватці крові був зафіксований у пацієнтів з наявністю клінічних проявів кріоглобулінемічного синдрому, й склав у хворих III групи – 592,1 (426,9 – 691,4) mAU/ml та у пацієнтів IV групи – 637,9 (579,6 – 829,1) mAU/ml. Вміст ЦІК у хворих III та IV груп достовірно перевищував ($p < 0,01$) цей показник як у здорових осіб, так й у хворих I та II груп.

Роль автоімунних порушень у розвитку та прогресуванні змішаної кріоглобулінемії у хворих на ХГС підтверджують прямі корелятивні зв'язки між кількісним вмістом змішаних кріоглобулінів і кількісним вмістом RF-IgM і RF-IgG, кардіоліпіну IgM й IgG, ЦІК в сироватці крові. Наявні також достовірні корелятивні взаємозв'язки між кількісним вмістом RF-IgM й RF-IgG з вмістом кардіоліпіну IgM в сироватці крові. Роль виявлених органонеспецифічних автоантитіл в розвитку імунокомплексного механізму позапечінкових уражень підтверджують корелятивні зв'язки між кількісним вмістом ЦІК та RF-IgM й RF-IgG, кардіоліпіном IgM й IgG (табл. 3).

Відомо, що значна гетерогенність структури HCV відіграє роль фактора, що збільшує ймовірність механізмів молекулярної мімікрії між антигенними структурами вірусу та структурами клітин хазяїна. За даними досліджень [10-12] при ХГС у більшості хворих виявляються ті чи інші лабораторні маркери автоімунних порушень, зокрема, змішані кріоглобуліни (40-74 %), ревматоїдний фактор (45-98 %), гіпокомплемента-

Таблиця 3.

Корелятивні взаємозв'язки між показниками автоімунних реакцій у хворих на хронічний гепатит С (r)

Показник	Кріоглобуліни	RF-IgM	RF-IgG	Кардіоліпін IgM	Кардіоліпін IgG	ЦІК
Змішані кріоглобуліни	-	+ 0,46*	+ 0,48*	+ 0,54*	+ 0,48*	+ 0,68*
RF-IgM	+ 0,46*	-	+ 0,81*	+ 0,42*	+ 0,14	+ 0,36*
RF-IgG	+ 0,48*	+ 0,81*	-	+ 0,37*	+ 0,11	+ 0,32*
Кардіоліпін IgM	+ 0,54*	+ 0,42*	+ 0,37*	-	+ 0,85*	+ 0,38*
Кардіоліпін IgG	+ 0,48*	+ 0,14	+ 0,11	+ 0,85*	-	+ 0,45*
ЦІК	+ 0,68*	+ 0,36*	+ 0,32*	+ 0,38*	+ 0,45*	-

мія (30 %), антитіла до кардіоліпіну (20-44 %), антитіла до Ro (SS-A)/La(SS-B) антигену, антинуклеарні автоантитіла (10-52 %) та інші, проте їх клінічне значення, за виключенням кріоглобулінів, залишається недостатньо визначеним. Припускають, що HCV, який здатний реплікуватися в клітинах імунної системи, обумовлює їх хронічну стимуляцію, що створює умови для полі- та моноклональної проліферації В-лімфоцитів; продукції полі- й моноклонального IgM-RF, який є основою змішаних кріоглобулінів [11]. Дані сучасної літератури свідчать, що HCV-інфекція характеризується унікальним імунологічним феноменом: найвищою продукцією RF, порівняно з іншими інфекціями [12], при цьому саме синтез RF-IgM створює умови для подальшого утворення імунних комплексів [13]. Виявлені в нашому дослідженні дані щодо частоти прояву автоімунних порушень та спектру автоантитіл залежно від наявності та різного ступеня виразності ознак змішаної кріоглобулінемії, свідчать про тривалий період безсимптомного пере-

бігу автоімунних порушень. Вони з часом поглиблюються та обумовлюють в подальшому маніфестацію клінічних проявів кріоглобулінемічного синдрому, зокрема, геморагічного кріоглобулінемічного васкуліту, що обумовлений відкладанням в судинній стінці ЦІК з розвитком запалення через локальну активацію комплементу та міграцію лейкоцитів (лейкоцитокласичний васкуліт) [14, 15].

Висновки.

1. У хворих на хронічний гепатит С частота виявлення органонеспецифічних автоантитіл RF-IgM і RF-IgG, кардіоліпіну IgM й кардіоліпіну IgG збільшується за умов появи та прогресування ознак HCV-асоційованої змішаної кріоглобулінемії.

2. Кількісний вміст RF-IgM і RF-IgG у сироватці крові є найвищим у хворих на хронічний гепатит С з маніфестацією клінічних проявів кріоглобулінемічного синдрому, порівняно з пацієнтами, які не мають клініко-біохімічних проявів або мають лише біохімічні ознаки змішаної кріоглобулінемії.

Література

1. Голубовська О. А. Епідеміологія та природний перебіг гепатиту С // О. А. Голубовська / Клінічна ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2008. - № 4. – С. 1-3.
2. Chronic hepatitis C virus infection increases mortality from hepatic and extrahepatic diseases: a community-based long-term prospective study / M.-H. Lee, Yang Hwai-I., Lu Sheng-Nan [et al.] // The journal of infectious diseases. – 2012. – Vol. 206. – P. 469-477.
3. Saadoun D. Hepatitis C-associated mixed cryoglobulinaemia: a crossroad between autoimmunity and lymphoproliferation / D. Saadoun, D. A. Laudau, L. H. Calabrese // *Reumatology*. – 2007. – Vol. 46. – P. 1234-1242.
4. Sterling R. K. Extrahepatic manifestations of hepatitis C virus / R. K. Sterling, S. Bralow // *Curr. Gastroenterol. Rep.* – 2006. – Vol. 8. – P. 53-59.
5. Castillo I. Hepatitis C virus replicates in peripheral blood mononuclear cells of patients with occult hepatitis C virus infection / I. Castillo, E. Rodriguez-Inigo, J. Bartolome // *Gut*. – 2005. – Vol. 54 (5). – P. 682-685.

6. Roque-Afonso A. M. Compartmentalization of hepatitis C virus genotypes between plasma and peripheral blood mononuclear cells / A. M. Roque-Afonso, Ducoulombier D., G. Di Liberto // *J. Virol.* – 2005. – Vol. 79 (10). – P. 6349-6357.
7. B-cell homeostasis in chronic hepatitis C virus related mixed cryoglobulinemia in maintained through naive B-cell apoptosis / L. E. Holz, J. C. Yoon, S. Raghuraman [et al.] // *Hepatology.* – 2012. – Vol. 56 (5). P. - 1602-1610.
8. Molecular signatures of hepatitis C virus (HCV)-induced type II mixed cryoglobulinemia / G. Sautto, N. Mancini, M. Clementi [et al.] // *Hepatology.* – 2012. – Vol. 4. – P. 2924-2944.
9. Константинова Н. А. Оценка криоглобулинов в сыворотке крови с учетом циркулирующих иммунных комплексов / Н. А. Константинова, А. Ю. Кирсанов // *Лабораторное дело.* – 1989. - №11. – С. 62-65.
10. Ferri C. HCV-related cryoglobulinemia vasculitis: an update on its etiopathogenesis and therapeutic strategies / C. Ferri, D. Giuggioli, M. Cassato // *Clin. Exp. Rheumatol.* – 2003. – Vol. 21. – P. 78-84.
11. Edgar D. C. Hepatitis C virus-induced cryoglobulinemia / D. C. Edgar, B. D. Lynn // *Kidney Internat.* – 2009.- Vol. 76. – P. 818-824.
12. HCV-инфекция и смешанная криоглобулинемия / Т. М. Игнатова, В. В. Серов, Н. А. Мухин [и др.] // *Клиническая медицина.* – 2005. - №6. – С. 37-43.
13. Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д. Иммунология. Пер. с англ. – М.: Мир, 2000. – 592 с.
14. Кривошеев О.Г. Системные сосудистые пурпуры: сложные вопросы классификации и номенклатуры / О.Г. Кривошеев // *Врач.* - 2000. - № 5. - С. 6-9.
15. Серов В. В. Хронический вирусный гепатит / В. В. Серов, З. Г. Апросина // М.: Медицина. – 2004. – 384 с.