

**На правах рукописи**

**СКЛЯР ЛИДИЯ ФЕДОРОВНА**

**СИСТЕМА ЦИТОКИНОВ И ПОКАЗАТЕЛИ ОКСИДАТИВНОГО  
СТРЕССА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ «С» С УЧЕТОМ  
ИММУНОКОРРИГИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ**

14. 00. 36 – Аллергология и иммунология



**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Владивосток  
2006

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Владивостокский государственный медицинский университет Федерального Агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации».

**Научные консультанты:**

доктор медицинских наук, профессор Маркелова Елена Владимировна  
доктор медицинских наук, профессор Каминский Юрий Валентинович

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук, профессор Долгих Татьяна Ивановна  
доктор медицинских наук, профессор Томила Геннадий Степанович  
доктор медицинских наук, профессор Проскова Елена Викторовна

**Ведущая организация:**

ГУ Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН.

Защита состоится 18 мая 2006 г. в 10<sup>00</sup> часов на заседании диссертационного совета Д 208.007.02 при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Владивостокский государственный медицинский университет Федерального Агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации» по адресу: 690950 г. Владивосток, ГСП, проспект Острякова 2 (главный корпус).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Владивостокский государственный медицинский университет Федерального Агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации» по тому же адресу (корпус 3).

Автореферат разослан 01 апреля 2006 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат медицинских наук, доцент



/ Диго Р.Н. /

2006А  
7344

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы:** Проблема вирусного гепатита С является одной из самых актуальных в современной медицине в связи с его широкой распространенностью, латентностью течения и выраженностью неблагоприятных исходов – цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы. По последним данным в мире насчитывается около 300 млн. инфицированных вирусом гепатита С (HCV), и по частоте ВГС стоит на первом месте среди всех инфекций, передающихся через кровь (Рахманова А.Г. с соавт., 2002; Лобзин Ю.В. с соавт., 2003; Карпов С.Ю., Крель П.Е., 2005; Strader D.V. et al., 2004). Предполагается, что к 2015-2020 гг. увеличится частота выявления хронического гепатита С на стадии цирроза печени, возрастет количество HCV-ассоциированной гепатокарциномы (Онищенко Г.Г., 2002; Wong J.B. et al., 2000; Sangiovanni A. et al., 2004). Проблема усугубляется тем, что в течение длительного времени у большинства инфицированных отсутствуют какие-либо симптомы заболевания (Соринсон С.Н., 1997; Шерлок Ш., Дули Дж., 1999; Апросина З.Г. с соавт., 2002; Pawlotsky J.M., McNutchison J.G., 2004). Однако более чем у 50% инфицированных HCV людей в конечном итоге развивается хронический вирусный гепатит С (ХВГС) (Игнатова Т.М., 2002; Lauer G.M., Wei Y.H., 2000). В настоящее время считается установленным, что высокая частота (от 50 до 85%) формирования хронических форм HCV-инфекции обусловлена «ускользанием» вируса от иммунного надзора (Майер К.П., 1999; Ивашкин В.Т. с соавт., 2002; Rothman A.L. et al., 2005). Существенное значение в поддержании патологического процесса у больных HCV инфекцией придается недостаточности CD4+ Т-хелперов и дисбалансу цитокинов (Волчкова Е.В. с соавт., 2000; Никитин И.Г., 2000; Семененко Т.А., 2000, 2005; Ferrari C. et al., 1999; Freeman A.J. et al., 2001). Данные о состоянии клеточного и гуморального иммунитета при HCV-инфекции противоречивы, продукция цитокинов клетками иммунной

РОС. НАЦИОНАЛЬНАЯ

БИБЛИОТЕКА

С.Петербург

09 10/6 акт

2004

системы при ХВГС, в том числе на фоне этиотропного лечения, изучена недостаточно. Между тем, этот вопрос имеет большое теоретическое и практическое значение, так как цитокины являются ключевыми медиаторами воспалительного процесса и формирования специфического иммунитета. Изучение цитокинового статуса во взаимосвязи с показателями тканевого повреждения у больных ХВГС и его изменений на фоне этиотропной терапии позволит глубже понять патогенез ХВГС, что, несомненно, позволит совершенствовать существующие схемы терапии. Отсутствие единого мнения о характере, направлениях, степени выраженности изменений цитокинового профиля диктует необходимость дальнейших исследований в этом направлении.

**Цель исследования:** Совершенствование диагностики и терапии хронического вирусного гепатита С на основе определения взаимосвязей цитокинового статуса, клинико-биохимических и морфологических маркеров иммунопатогенеза HCV-инфекции.

**Задачи исследования:**

1. Оценить цитокиновый статус (ИЛ-1 $\alpha$ , 2, 4, 8, 10, ИЛ-12p40, ИЛ-12p70, ФНО- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$ , ГМ-КСФ) на системном (в сыворотке крови) и локальном (в супернатантах гепатобиоптатов) уровнях и особенности его изменений при различных клинико-морфологических вариантах ХВГС с учетом биохимических показателей и генотипа возбудителя.
2. Охарактеризовать морфологические изменения в печени у больных ХВГС с учетом клинико-биохимических, иммунологических и вирусологических показателей.
3. Провести анализ частоты выявления РНК HCV в различных биологических субстратах (в сыворотке крови, клеточных элементах крови и ткани печени) в зависимости от маркеров гепаатоцеллюлярного повреждения и генотипа возбудителя.

4. Определить степень информативности биохимических маркеров оксидативного стресса на системном и локальном уровнях у больных ХВГС в зависимости от клинико-морфологических, биохимических, вирусологических и иммунных показателей.
5. Изучить показатели кислородзависимого метаболизма нейтрофилов у больных с ХВГС с учетом клинико-морфологических вариантов заболевания, иммунологических и биохимических показателей.
6. Изучить некоторые показатели апоптоза гепатоцитов и его взаимосвязь с системой цитокинов и выраженностью гепатоцеллюлярного повреждения.
7. Провести мониторинг системного и локального уровней цитокинов, показателей оксидативного стресса при стандартной комбинированной противовирусной терапии ХВГС и разработать алгоритм оценки ее эффективности.
8. Определить обоснованность применения рекомбинантного ИЛ-2 с иммунокорригирующей целью на основании выявленных изменений цитокинового статуса и показателей оксидативного стресса при проведении противовирусной терапии больных ХВГС.

#### **Научная новизна исследований:**

Впервые проведена комплексная оценка цитокинового статуса, показателей оксидативного стресса на системном и локальном уровнях у больных ХВГС с учетом особенностей клинико-морфологических, биохимических и вирусологических параметров.

Впервые разработаны иммунологические критерии оценки гепатоцеллюлярного повреждения и предложен неинвазивный метод мониторинга фиброза печени при ХВГС.

Впервые использована оценка взаимоотношений цитокинового профиля, показателей, характеризующих перекисные процессы в

организме и морфологических изменений в печени с уровнем локального  $\alpha 1$ -КГП при ХВГС.

Установлена слабая активация фагоцитов с истощением резервных возможностей кислородозависимых механизмов их бактерицидности, сопряженных с гиперпродукцией ИЛ-8, ИЛ-10 и ГМ-КСФ при ХВГС.

Впервые оценены взаимоотношения между состоянием апоптоза и цитокиновой архитектурой непосредственно в печени при хронической HCV-инфекции. Показано, что снижение CD95+ клеток в гомогенизатах печени у пациентов с выраженным фиброзом является следствием частичного замещения печеночной ткани на соединительную.

Впервые выявлены корреляционные связи между показателями продуктов ПОЛ в сыворотке крови, параметрами цитокинового профиля ткани печени и локальным уровнем метаболитов NO. В группе больных с умеренным и выраженным фиброзом установлена взаимосвязь локальной концентрации ИЛ-4 и метаболитов NO.

Расширены представления о механизмах терапевтического эффекта  $\alpha$ -интерферонов в сочетании с рибавирином, который ассоциировался с повышением уровня ИЛ-2, снижением уровней провоспалительных цитокинов ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\alpha$ , субъединиц ИЛ-12 - 12p40 и 12p70, снижением содержания противовоспалительного цитокина ИЛ-10 и метаболитов оксида азота в сыворотке крови у пациентов с отсутствием Т-клеточной анергии.

Предложен алгоритм оценки эффективности комбинированной противовирусной терапии. С целью ее оптимизации у пациентов с отсутствием раннего вирусологического ответа обоснованы показания к использованию рекомбинантного ИЛ-2.

#### **Практическая ценность работы:**

Подтверждена иммуноопосредованность клинико-биохимической манифестации, некрозо-воспалительной активности и выраженности

фиброза при ХВГС на основе анализа роли системных и локальных цитокинов в иммунопатогенезе ХВГС.

Установлена сопряженность уровня локальных цитокинов (ИЛ-10, ИЛ-12p70, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\alpha$ ) с маркерами оксидативного стресса и их роль в прогрессировании хронической HCV-инфекции.

Выяснено, что снижение апоптотической активности клеток печени играет роль в прогрессировании некротовоспалительных повреждений печени и может свидетельствовать об усилении дисфункции иммунной системы по мере прогрессирования болезни. Разработан неинвазивный метод диагностики фиброза печени при хронической HCV-инфекции.

Предложены новые предикторы и критерии клинической эффективности этиопатогенетической терапии ХВГС, которые могут быть использованы при динамичном наблюдении за больными в процессе лечения.

С учетом проведенных исследований разработана и предложена эффективная схема оптимизации этиопатогенетического лечения с использованием рекомбинантного ИЛ-2 у пациентов с выявленной Т-клеточной анергией.

Рекомендации по обследованию и лечению внедрены в органы практического здравоохранения Приморского края и городов России (Петрозаводска, Астрахани, Санкт-Петербурга, Хабаровска).

**Апробация материалов работы:** Результаты исследований были представлены и доложены на различных научных форумах международного, российского, регионального уровней.

**Международных:** международной научно-практической конференции «Цитокины, воспаление, иммунитет» (Санкт-Петербург, 2002), Всемирном конгрессе по клинической и иммунной патологии (Сингапур, 2002), XVII Всемирном конгрессе по астме и аллергологии (Санкт-Петербург, 2003), VII Российско-Японском международном симпозиуме Медицинского

обмена (Ниигата, 2004), II Всемирном конгрессе по иммунопатологии и аллергии (Москва, 2004), Всемирном конгрессе по аллергологии и иммунологии (Москва, 2005), Китайско-Российской международной конференции по фармакологии (Харбин, 2005).

Российских: IV и VI Российских научно-практических конференциях «Гепатит В, С и Д - проблемы диагностики, лечения и профилактики» (Москва, 2001, 2005), IV Российской конференции «Гомеостаз и инфекционный процесс» (Сочи, 2003), IV Российском съезде врачей-инфекционистов (Санкт-Петербург, 2003), XI Российском Национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2004), 9-й и 10-й Российских конференциях с международным участием «Гепатология сегодня» (Москва, 2004, 2005), IX Всероссийском форуме с международным участием имени академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2005).

Региональных: научно-практических конференциях «Актуальные проблемы инфекционной патологии на Дальнем Востоке России» (Хабаровск, 2002, 2005), II научно-практической конференции Дальнего Востока «Генодиагностика в практической медицине Дальнего Востока (Владивосток, 2002), III и IV научно-практических конференциях «Инфекционная патология в Приморском крае» (Владивосток, 2003, 2004), II Дальневосточном конгрессе «Человек и лекарство» с международным участием (Владивосток, 2005), заседаниях краевого общества инфекционистов (Владивосток, 2000-2005 гг).

Публикации: Результаты исследований изложены в 70 публикациях, в том числе в 22 журнальных статьях; 2 патентах изобретений («Способ лечения хронического вирусного гепатита С» № 2265447 от 10 декабря 2005 г., «Способ коррекции цитолитического синдрома при хронических гепатитах» № 2004115181, приоритет от 19.05.04); методических рекомендациях «Иммунотерапия ронколейкином хронического вирусного

гепатита С», 2003; учебном пособии для последипломной подготовки врачей, утвержденном УМО по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России «Клинико-морфологические и иммунологические аспекты парентеральных гепатитов», 2005; монографии «Хроническая HCV-инфекция (современные иммуноморфологические аспекты)», 2006. За 1 автором опубликовано 13 работ.

**Объем и структура диссертации:** Диссертация изложена на 300 страницах машинописного текста, состоит из 7 глав, содержит введение, обзор литературы, описание материалов, методов исследования, обсуждение, выводы, практические рекомендации для внедрения в медицинскую науку и практику, список использованной терапии, содержащий 531 источник (из них 291 отечественных и 240 зарубежных авторов). Диссертация сопровождается 6 клиническими примерами, иллюстрирована 35 таблицами, 26 рисунками, 9 фотографиями.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. При ХВГС в период вирусной реактивации как на системном, так и на локальном уровнях происходит изменение баланса цитокинов Th1/Th2 в пользу повышения уровня продукции Th2-типа, что влияет на клинические, биохимические и морфологические проявления заболевания.
2. Тесная взаимосвязь между уровнями локальных цитокинов ИЛ-4, ИЛ-10, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-12p70 и гистологическими параметрами портального воспаления у больных ХВГС свидетельствует об его иммуноопосредованных механизмах.
3. Частота обнаружения РНК HCV в различных биосубстратах сопряжена с прогрессированием фиброза печени. 1b генотип HCV вызывает наиболее выраженные морфологические воспалительные изменения и иммунные дисфункции в печени.

4. Взаимосвязь интенсивности процессов ПОЛ, нарушений нитроксидазических процессов и цитокинового профиля печени с биохимической, гистологической активностью и стадией хронизации процесса позволяет предложить неинвазивные методы мониторинга гепатоцеллюлярного повреждения.
5. Эффективность противовирусной терапии зависит от выраженности Т-клеточной анергии. Положительный ее эффект у больных ХВГС ассоциировался с повышением уровня ИЛ-2, снижением уровней провоспалительных цитокинов ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\alpha$ , субъединиц ИЛ-12 – 12p40 и 12p70, противовоспалительного медиатора ИЛ-10 и уровня метаболитов оксида азота у «реактивных» больных с отсутствием Т-клеточной анергии.
6. Для повышения эффективности интерферонотерапии у «анергичных» больных необходимо стимулировать Th1 звено иммунитета. Активация Th1, снижение уровней ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-12p70, ФНО- $\alpha$  и метаболитов оксида азота в сыворотке крови при терапии рекомбинантным ИЛ-2 в сочетании с комбинированной противовирусной терапией у «анергичных» пациентов обуславливают ее эффективность.

#### СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Контингент, материалы и методы исследования:** Исходя из цели и задач, было проведено динамическое наблюдение и обследование 320 больных ХВГС (194 мужчины и 126 женщин в возрасте от 17 до 57 лет с преобладанием лиц молодого и среднего возраста – 83,1%), находившихся на лечении и диспансерном наблюдении в инфекционном отделении Краевой клинической больницы №2 и медицинском центре ООО «Асклепий», в период 1998-2005 гг.

Пациенты обследованы по единому плану согласно «Стандартам диагностики и лечения болезней органов пищеварения», утвержденных

Приказом МЗ РФ № 125 от 17.04.98 г. Диагноз ХВГС устанавливался на основании клинико-эпидемиологических и биохимических данных и подтверждался определением маркеров инфицирования HCV (a/HCV-сум., a/HCV-IgG, a/HCV-IgM, a/HCV-Ns(3-5) методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-наборов «Вектор», Новосибирск (Россия), вiremии с помощью «nested»-варианта полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием синтетических праймеров из 5'-нетранслируемого региона HCV (стандартные тест-наборы «Полигеп-С», НПО «ЛИТЕХ», Россия), генетического типирования с помощью праймеров, специфичных к региону core, а также данными УЗИ печени и морфологического исследования биоптатов печени. У всех обследованных больных отсутствовали в крови маркеры гепатитов А, В и D. Были также исключены и другие диффузные заболевания печени.

Выявлялся ХВГС чаще случайно при обследовании в соматических отделениях или амбулаторно по поводу другой патологии, перед проведением плановых или экстренных оперативных вмешательств, при скрининговом обследовании беременных, перед призывом в армию и т.д. И только 60 пациентов (18,8%) обратились в медицинские учреждения с различными жалобами, представленными, в большинстве случаев, дискомфортом со стороны гепатобиллиарной системы и желудочно-кишечного тракта. Наши данные согласуются с мнением С.Н. Соринсона с соавторами (1997), К.В. Жданова с соавторами (2004) о наличии «латентной фазы» без клинической манифестации и «фазы реактивации» в течении ХВГС. Длительность заболевания ХВГС можно было установить лишь условно, опираясь на возможные факторы риска заражения и составляла от 1 года до 9 лет, в среднем  $5,7 \pm 1,5$  лет.

Присутствие РНК установлено нами в 80% образцов пункционной биопсии печени. При исследовании лейкоцитов периферической крови и

сыворотки крови пациентов РНК вируса выявили в 60% и в 56,7% исследуемых образцов соответственно. При этом одновременно во всех трех биологических субстратах РНК HCV определялась у 30% пациентов, у 20% РНК обнаружена только в гомогенизатах печени и клетках крови, но не выявлена в сыворотке крови. Между обнаружением РНК в крови и печеночной ткани не наблюдалось взаимосвязи. Наши данные согласуются с результатам исследований Е.И. Лакиной с соавторами (2000), Н.В. Бушуевой с соавторами (2003), когда при естественном течении хронической HCV-инфекции РНК HCV выявляется в ткани печени у 89-95% больных, мононуклеарных клетках – у 84-85%, в сыворотке крови – у 79-88% больных. Анализируя представленные данные, можно заключить, что инфицирование HCV представляет распространенный системный персистирующий процесс с поражением не только органа-мишени (печени), но и других систем, обуславливающий внепеченочные проявления заболевания.

В наших исследованиях превалирует генотип 1b, на долю которого приходится более 40% случаев. В убывающем порядке встречаются 3a (37,5±4,4%), микст-субтипы, которые зафиксированы в 8,8% (1a+3a – (21,4±8,2%), 1b+3a – (50±3,9%), 1b+2a – (28,6±7,2%)), 1a (7,5±1,7%) и 2a (3,1±1,3%) (рис. 1).

В клинической картине доминировали проявления астеновегетативного синдрома в виде слабости и утомляемости (58,8%), выявленных в большинстве случаев при активном распресе. Наиболее часто данный синдром регистрировался при 2a и 1b генотипах (в 70% и 65,9% случаев соответственно). Жалобы на тяжесть в правом подреберье, снижение аппетита наиболее часто отмечались у пациентов с 1b генотипом ХВГС (55,8% и 42,3% соответственно). Желтушный синдром (субиктеричность кожи и склер) у обследуемых больных с ХВГС наблюдался редко (20%), причем чаще при 1a генотипе (33,3%).

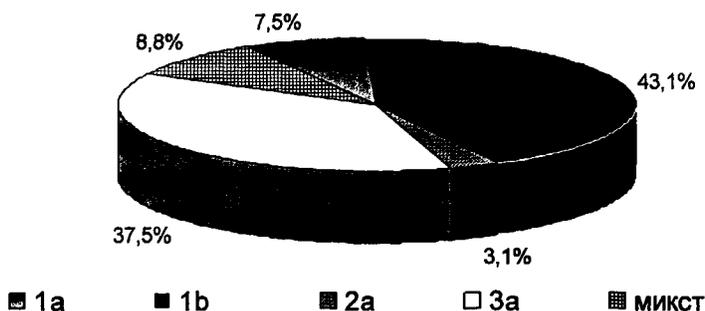


Рис. 1. Распределение генотипов HCV у больных ХВГС (%)

Гепатомегалия одинаково часто отмечалась среди больных ХВГС, вызванных 1b, 3a и микст генотипами. Однако, при 2a генотипе, увеличение печени наблюдалось почти в два раза чаще. Внепеченочные проявления HCV- инфекции зафиксированы почти в одной трети случаев наблюдений (29,1%) и, в основном, были представлены гастро-, эндокрино-, артро- и ангиопатиями. Их преимущественную связь с каким-либо генотипом установить не удалось. Уровень сывороточных aminотрансфераз у больных ХВГС генотипа 1a в 91,7% случаев не превышал нормы. В то же время у пациентов с генотипом 1b увеличение уровня АлАТ до 3 норм наблюдалось у половины больных, что составило 51,4%. Все случаи высокой активности ХВГС (с уровнем АлАТ более 5 норм) составили пациенты с генотипом 1b, 3a и микст-субтипами. При УЗИ органов брюшной полости, как правило, выявляли разной степени выраженности диффузные изменения печени (96%).

Анализ морфологических данных проведен у 100 больных на биопсийном материале печени. В соответствии с общепринятыми критериями оценки повреждения печени по R.G. Knodell с соавторами (1981) и V. Desmet с соавторами (1994), с использованием системы

METAVIR (1996), минимальная степень активности патологического процесса была установлена в 22,9% случаев, слабая – в 55,7%. В 14,3% случаев изменения в печени соответствовали умеренной степени активности и только в 7,1% активность была выраженной (рис. 2). Установлено, что у пациентов с умеренной активностью процесса, в большинстве (78%) случаев, определялся генотип 1b, в то время как при минимальной активности обнаруживался генотип 3a (70%).

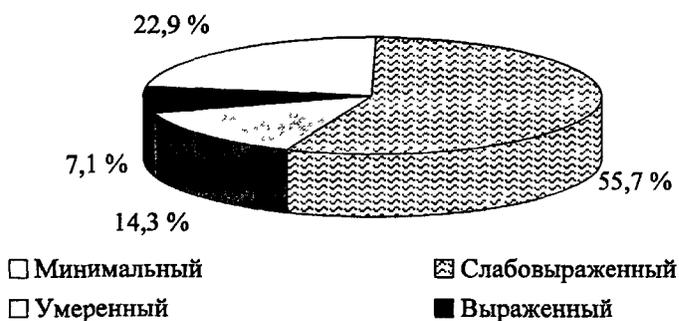


Рис. 2. Распределение ХВГС по степени активности (согласно ИГА по R.G. Knodell с соавт., 1981)

Среди пациентов без клинических проявлений болезни и с нормальными показателями АлАТ доля лиц с минимальной активностью процесса составила 50%, среди пациентов с признаками слабой активности таких было почти столько же – 43,8%, с умеренной активностью – 6,2% и с высокой активностью пациентов не выявлено.

Наряду с этим по мере возрастания активности процесса, в особенности умеренной и выраженной, увеличивалась доля лиц, у которых клинически выраженные признаки болезни сочетались с повышенными

показателями АлАТ. При этом наблюдалось уменьшение количества пациентов с минимальной и слабовыраженной активностью воспалительного процесса в печени. В целом преобладала группа больных, у которых при отсутствии клинических проявлений заболевания был выявлен цитолиз различной выраженности, а степень активности патологического процесса характеризовалась в основном как слабовыраженная (70%). У большинства обследованных больных (60%) была диагностирована стадия слабовыраженного фиброза (F1). Полученные нами данные совпали с исследованиями М. Patsico с соавторами (2000) и Т.М. Игнатовой (2002) и подтверждают отсутствие убедительной зависимости выраженности клинической симптоматики от степени патоморфологических изменений в печени у пациентов с ХВГС. Однако была определена зависимость выраженности цитолиза от активности патологического процесса в печени. Сравнительный анализ групп наблюдений с нормальной и повышенной активностью АлАТ выявил достоверные различия по основным морфологическим параметрам, характеризующим активность воспаления в печени, в том числе и по ИГА R.G. Knodell ( $1,9 \pm 0,2$  балла и  $3,5 \pm 0,3$  балла,  $p < 0,001$ ) и всем его составляющим. Морфологическая составляющая ИГА у пациентов с нормальным уровнем АлАТ сыворотки крови представлена в основном (75,8%) не некротическим компонентом, а клеточной инфильтрацией, активацией купферовских клеток, пролиферацией эпителия желчных канальцев. В первую очередь, повышенная активность АлАТ сопровождалась внутريدольковым компонентом воспаления, что подтверждено достоверной взаимосвязью с выраженностью внутريدольковых некрозов ( $R=0,51$ ;  $p < 0,001$ ) и воспалительной инфильтрации долек ( $R=0,37$ ,  $p < 0,05$ ). Несколько в меньшей степени цитолитический синдром зависел от портального компонента воспаления за счет перипортальных некрозов ( $R=0,48$ ;  $p < 0,001$ ) и воспалительной

инфильтрации в портальных трактах ( $R=0,25$ ,  $p<0,05$ ). Полученная зависимость цитолиза гепатоцитов от выраженности морфологических изменений не соответствует результатам некоторых исследований (Kronenberger B. et al., 2000, Seeff L.B., 2002, Castera L. et al., 2003).

В качестве биологических материалов для исследований нами использовалась венозная кровь и биоптаты печени, полученные методом чрескожной пункционной биопсии печени иглой Менгини.

Контрольную группу составили 50 человек доноров Краевой станции переливания крови. Средний возраст группы доноров и их соотношение по половому признаку были сопоставимы с обследуемыми больными. Контролем для изучения параметров исследований в гепатобиоптатах послужили биопсии печени, проведенные в плановом порядке при лапаротомии и/или лапароскопии у пациентов с ЖКБ, калькулезным холециститом, неосложненной формой (без приступов печеночной колики в анамнезе и случайно выявленные при УЗИ) и соответственно без признаков воспаления желчного пузыря и желчевыводящих протоков, а также без маркеров вирусного или иного характера повреждения печени ( $n=10$ ). Учитывая небольшие пределы разбросов показателей, мы сочли возможным ограничиться этим количеством исследований. Необходимо принять во внимание также сложность и специфику забора материала.

Все использованные нами методические приемы и объем проведенных исследований представлены в таблице 1.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Исследованиями последних лет показано, что нарушение баланса продукции цитокинов Th1/Th2 клетками играет важную роль в иммунопатогенезе HCV-инфекции, способствуя нарушению лизиса зараженных гепатоцитов и элиминации вирусных частиц с развитием хронического воспаления (Семененко Т.А., 2000, Ивашкин В.Т. с соавт.,

Таблица 1

## Направления, методы и объем исследований

№	Направление исследования	Методы исследования	Объем работ
1.	Клинико-лабораторные исследования	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Анкетирование пациентов.</li> <li>2. Комплексное клиническое обследование больных и лиц контрольной группы в динамике.</li> <li>3. Расширенный мониторинг клинико-биохимических и инструментальных (УЗИ) показателей.</li> </ol>	<p>320 чел. 370 чел.</p> <p>370 чел.</p>
2.	Маркерная диагностика ХГС	<ol style="list-style-type: none"> <li>4. Определение антител к HCV методом ИФА.</li> <li>5. Качественное определение РНК HCV в биологических средах пациентов (плазма, клеточная взвесь, гомогенизат биоптата печени) методом ПЦР с генотипированием (Simmonds P., 1995).</li> </ol>	<p>370 чел.</p> <p>320 чел.</p>
3.	Морфологическая характеристика поражения печени.	<ol style="list-style-type: none"> <li>6. Параметры активности гепатита (по Knodell R.G., 1984) и фиброза (по Desmeth V., 1994).</li> </ol>	125 чел.
4.	Исследование маркеров апоптоза в гепатоцитах.	<ol style="list-style-type: none"> <li>7. Определение CD-95 антигенной детерминанты по А.А. Тотоляну с соавт. (1999) иммунолюминесцентным методом.</li> <li>8. Иммуногистохимические методы Fas-зависимого апоптоза с помощью аннексина V-Биотина TACS (комплект «Apoptosis Detection Kits, catalog Number: TA4619», USA).</li> </ol>	<p>80/80 чел/проб</p> <p>80/80 чел/проб</p>
6.	Характеристика цитокинового статуса	<ol style="list-style-type: none"> <li>9. Определение содержания ИЛ-1α, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12p40, ИЛ-12p70, ИНФ-γ, ФНО-α, ГМ КСФ в сыворотке крови.</li> <li>10. Определение содержания ИЛ-1α, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12p40, ИЛ-12p70, ИНФ-γ, ФНО-α, ГМ КСФ в супернатанте гепатобиоптатов.</li> </ol> <p>Определение уровня исследуемых цитокинов в биологических субстратах проводили с помощью специфических реактивов фирмы «R&amp;D Diagnostics Inc.» (США) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа.</p>	<p>195/2020 чел/проб</p> <p>110/1100 чел/проб</p>
7.	Характеристика показателей окислительного метаболизма.	<ol style="list-style-type: none"> <li>11. Определение стабильных метаболитов оксида азота в сыворотке крови.</li> <li>12. Определение стабильных метаболитов оксида азота в супернатанте гепатобиоптатов.</li> <li>13. Определение α1-кислого гликопротеина, индекса окисленности, диеновых конъюгатов, триенкетонов сыворотки крови и оснований Шиффа.</li> <li>14. Определение α1-кислого гликопротеина в супернатанте гепатобиоптатов.</li> <li>15. Оценка кислородзависимых механизмов бактерицидности в НСТ-тесте по методу К.А. Лебедева с соавт. (1981).</li> </ol>	<p>195/260 чел/проб</p> <p>110/110 чел/проб</p> <p>170/850 чел/проб</p> <p>80/80 чел/проб</p> <p>60/180 чел/проб</p>
8.	Статистическая обработка материала.	<ol style="list-style-type: none"> <li>16. Математическая обработка проводилась методами описательной, параметрической и непараметрической статистики с использованием программы «Biostat», «Statistica 5»</li> </ol>	Все показатели

2001, Астахин А.В., 2002, Ferrari C. et al., 1999, Freeman A.J. et al., 2001). В наших исследованиях установлено, что концентрации сывороточных ИЛ-2 и ИФН- $\gamma$  достоверно снижались в период обострения ХВГС у всех обследованных пациентов ( $0,3 \pm 0,05$  пг/мл и  $4,1 \pm 1,7$  пг/мл против  $0,8 \pm 0,34$  пг/мл и  $14,31 \pm 1,7$  пг/мл у здоровых соответственно,  $p < 0,05$  и  $p < 0,01$ ), что согласуется с мнением большинства ученых (Курамшин Д.Х. с соавт., 2001, Симбирцев А.С., 2004, Wedemeyer H. et al., 2003 и др.) (табл. 2).

Таблица 2

Концентрация сывороточных цитокинов у пациентов при ХВГС

Показатели	Концентрация цитокинов (пг/мл)	
	Здоровые доноры (n=50)	Больные ХВГС (n=120)
ИЛ-1 $\alpha$	$0,53 \pm 0,04$	$5,1 \pm 0,9$ $p < 0,01$
ИЛ-2	$0,8 \pm 0,34$	$0,3 \pm 0,05$ $p < 0,05$
ИЛ-4	$3,24 \pm 0,44$	$9,3 \pm 0,7$ $p < 0,05$
ИЛ-10	$13,9 \pm 0,7$	$98,7 \pm 11,7$ $p < 0,01$
ИЛ-12p40	$54,8 \pm 4,5$	$289,8 \pm 34,6$ $p < 0,001$
ИЛ-12p70	$6,3 \pm 1,2$	$45,8 \pm 14,6$ $p < 0,01$
ИФН- $\gamma$	$14,31 \pm 1,7$	$4,1 \pm 1,7$ $p < 0,01$
ФНО- $\alpha$	$4,27 \pm 1,23$	$21,6 \pm 1,1$ $p < 0,05$

Примечание:

p – достоверность различий по сравнению с аналогичными параметрами у доноров

Полученные результаты свидетельствуют о достоверном увеличении уровней ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-12p40, ИЛ-12p70, ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови в период вирусной реактивации хронической HCV-инфекции по сравнению с группой здоровых доноров. Эти данные согласуются с результатами исследований, которые свидетельствуют об изменении баланса цитокинов Th1/Th2 в пользу повышения уровня продукции

цитокинов Th2-типа при хронической HCV-инфекции в период вирусной реактивации (Никитин И.Г., 2000, Логинов А.С. с соавт., 2001, Шульпекова Ю.Б. с соавт., 2002, Freeman A.J. et al., Gruener N.H. 2001).

Соотношение ИФН- $\gamma$ /ИЛ-4, своеобразный коэффициент, характеризующий процессы иммунной регуляции, в группе больных составило  $0,4 \pm 0,02$  против  $4,4 \pm 1,2$  в контрольной группе,  $p < 0,01$ . Выявленная в наших исследованиях динамика альтернативных цитокинов, в частности, повышение концентрации ИЛ-4 при стойко сниженных уровнях ИФН- $\gamma$ , определяет преобладание Th2-типа иммунного ответа, что может косвенно свидетельствовать об иммунопатологических сдвигах, определяющих неадекватную дифференцировку Т-хелперов и развитие иммуносупрессии. Подобная супрессия ИФН- $\gamma$  при высоком содержании провоспалительных цитокинов инициирует поликлональную реакцию Т-лимфоцитов, затем гиперпродукцию цитокинов и апоптоз (Ярилин А. А., 1997, Фрейдлин И. С., 2001). Достоверное повышение содержания ФНО- $\alpha$  ( $21,6 \pm 1,1$  пг/мл против  $4,27 \pm 1,23$  пг/мл у здоровых,  $p < 0,05$ ) и ИЛ-1 $\alpha$  ( $5,1 \pm 0,9$  пг/мл против  $0,53 \pm 0,04$  пг/мл у здоровых,  $p < 0,01$ ) в сыворотке крови у больных ХВГС свидетельствует о важной роли указанных цитокинов в реализации механизмов противовирусной защиты, что согласуется с данными литературы о том, что ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\alpha$  являются основными медиаторами воспалительных процессов и клеточных иммунных реакций (Гейвандова Н.И., 2001, Царегородцева Т.М. с соавт., 2001, Yoshioka K. et al., 1999). Однако следует учитывать, что их противовирусная активность в условиях персистенции ВГС, по-видимому, недостаточна.

При хронической HCV-инфекции повреждение гепатоцитов коррелирует с уровнем продукции ИЛ-12 (Мамаев С.Н., 2001, Приймаги Л. С., 2002, Dixon, F.J., 2001). При анализе содержания изомера р70 ИЛ-12 в сыворотке крови в фазу реактивации ХВГС нами обнаружено

значительное повышение его уровня, что в 7 раз выше показателя у здоровых ( $45,8 \pm 14,6$  пг/мл против  $6,3 \pm 1,2$  пг/мл,  $p < 0,01$ ). При этом зарегистрирована прямая сильная корреляционная связь между концентрациями ИЛ-12p70 и ИЛ-12p40 в сыворотке крови ( $r = 0,88$ ,  $p < 0,001$ ). Это свидетельствует о прямом влиянии уровня ИЛ-12p70 на продукцию ИЛ-12p40. Выявленная гиперпродукция ИЛ-12p40, по-видимому, является компенсаторной реакцией на повышение уровня ИЛ-12p70 в крови и может быть одним из механизмов снижения синтеза ИФН- $\gamma$ . Известно, ИЛ-12p40 ингибирует опосредованные ИЛ-12 эффекты, главным образом, синтез ИФН- $\gamma$  (Ветра Я.Я., 2000, Фрейдлин И.С., 2001). На основании полученных нами данных можно предположить, что чрезмерная индукция синтеза белка p40 контролирует продукцию биоактивного димера p70, тем самым блокируются рецепторы ИЛ-12 и ограничивается его биологическая активность. Вероятно, этим фактом можно объяснить низкий уровень сывороточного ИФН- $\gamma$  в наших исследованиях при хронической HCV-инфекции.

Генотип HCV не влиял на уровни исследуемых цитокинов, кроме ИЛ-10, гиперпродукция которого наблюдалась при 1b генотипе, что по нашему мнению, косвенно указывает на возможную связь указанного генотипа с иммуносупрессией.

Отмечены достоверные отличия между уровнями ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\alpha$  в группах пациентов с разной активностью АЛТ ( $p < 0,01$ ), что указывает на зависимость биологических эффектов ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\alpha$  от их концентрации (рис. 3). Обнаружена прямая сильная корреляционная зависимость между уровнями изучаемых цитокинов в сыворотке крови и выраженностью цитолиза ( $r = 0,87$ ,  $p < 0,001$  и  $r = 0,78$ ,  $p < 0,001$  соответственно). Наши данные согласуются с мнениями А.С. Логинова и соавторами (2001), Ю.В. Лобзина с соавторами (2003) и других ученых о том, что значительное

повышение уровней ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\alpha$ , как правило, сопряжено с реакцией повреждения и воспаления.

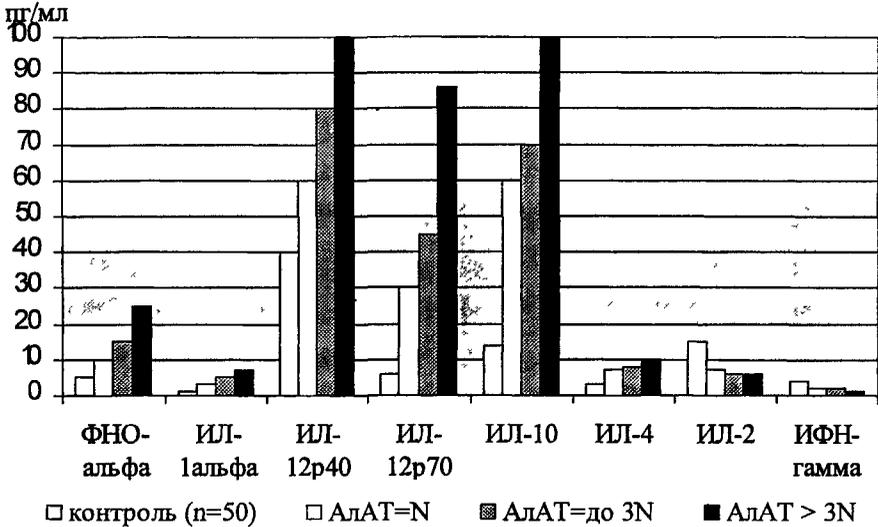


Рис. 3. Зависимость концентраций цитокинов в сыворотке крови от биохимической активности у больных ХВГС

При анализе содержания исследуемых изомеров ИЛ-12 – p40 и p70 в зависимости от уровня АлАТ выявлено, что максимальные их концентрации наблюдались при увеличении активности АлАТ в 3 и более раз. Установлена прямая средней силы корреляционная связь сывороточных уровней ИЛ-12p40 и ИЛ-12p70 с выраженностью цитолиза ( $r=0,65$ ,  $p<0,01$  и  $r=0,68$ ,  $p<0,01$ ), что согласуется с мнением большинства ученых о том, что при хронической HCV-инфекции повреждение гепатоцитов коррелирует с уровнем продукции ИЛ-12 (Лазебник Л.Б., 2004, Шапиро И.Я. с соавт., 2002, Jarmay K. et al., 2002, Langrish C.L. et al., 2004).

В наших исследованиях значения уровня ИЛ-10 достоверно различались в группах с разной активностью АлАТ ( $p<0,05$ ). При этом

между показателями его уровней в сыворотке крови и цитолизом выявлена прямая сильная корреляционная связь ( $r=0,81$ ,  $p<0,001$ ).

Нами впервые изучен цитокиновый статус на локальном уровне, непосредственно в супернатантах гепатобиоптатов. Как выяснено в результате проведенных исследований, изменение содержания цитокинов Th1 и Th2 на локальном и системном уровнях носит однонаправленный характер (табл. 3).

Таблица 3.  
Уровни цитокинов в супернатантах ткани печени у больных ХВГС

Показатели (пг/мл)	Контр. группа	M±m	Пределы колебаний признака	Медиана
ИЛ-1α	16,4±2,9 (13-18,4)	67,2±5,9***	19-76,8	68,5
ИЛ-2	29,0±2,8 (27,9-31)	7,5±1,6***	0,5-18,2	5,3
ИЛ-4	55,0±9,4 (51-60,6)	491,0±86,5*	120,8-1301,0	454,9
ФНО-α	4,9±1,4 (4,5-6,0)	71,0±15,1**	16,4-134,0	67,4
ИФН-γ	64,4±2,9 (62,7-66)	9,1±1,8***	1,1-28,9	6,8
ИЛ-10	139,4±13,2 (102-173)	226,2±10,0*	137-278	232
ИЛ-12p40	6,8±0,9 (4,4-9,7)	160,4±24,5**	37,9-376	6,1
ИЛ-12p70	0,27±0,03 (0,2-0,3)	24,2±5,6*	3,1-87,8	19,9

Примечание. Достоверность различий по сравнению с соответствующими показателями в контрольной группе: \* -  $p<0,05$ , \*\* -  $p<0,01$ , \*\*\* -  $p<0,001$ .

- пределы колебаний признака в контрольной группе.

При этом преобладала локальная концентрация таких цитокинов как ФНО-α, ИЛ-12p40 и ИЛ-4 над сывороточными показателями более, чем в 15 раз по сравнению с уровнем изучаемых показателей в группах контроля. Увеличение концентрации цитокинов в органе-мишени

объяснимо и связано с преимущественно локальной их продукцией и функцией медиаторов межклеточных коммуникаций. Однако не исключено и нарушение их инактивации поврежденной печенью (Ляшенко В.А., 2004, Bergsland E.K., 2001), что частично позволяет объяснить полученные данные. Результаты наших исследований подтверждают мнение некоторых ученых о том, что экспрессия генов цитокинов Т-хелперов 1-го типа и провоспалительных цитокинов при ХВГС в клетках печени более выражена по сравнению с клетками периферической крови (Fukuda R., 1995, Rosen H.R., 2003). Это не согласуется с данными G. Herbein с соавторами (2000), которыми при изучении продукции цитокинов Т-клетками из печеночного инфильтрата больных ХВГС было установлено, что большинство Т-клеток представлены Т-хелперами 1-го типа и продуцировали ИФН- $\gamma$ , а не ИЛ-4. При этом у пациентов с активным гепатитом обнаружена более высокая продукция цитокинов Th 1-го типа (Marcellin P. et al., 2002).

Концентрации таких, цитокинов, как ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-12p40, ИЛ-12p70 и ИЛ-10 в супернатантах гепатобиоптатов зависели от уровня активности АлАТ в сыворотке крови и генотипа HCV (табл. 4). Повреждение печеночной ткани с развитием склеротических и некротических изменений, по мнению K. Yoshioka с соавторами (1999) и K. Kakumi с соавторами (2003), связано с воспалительными процессами в ткани органа и уровнем продукции провоспалительных цитокинов. M. Neuman с соавторами (2002) считают, что уровень ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови отражает степень воспалительной активности в ткани печени.

По мнению Е.А. Лукиной с соавт. (2000), Д.А. Гусева с соавт. (2001), А.В. Астахина с соавт. (2002) уровень ИЛ-1 $\alpha$  отражает дисфункцию печени при ХВГС лучше, чем биохимические параметры ее воспаления. Выявлена высокая степень корреляции между содержанием сывороточного ИЛ-1 $\alpha$  и уровнями АлАТ, общего белка, воспалительной инфильтрации ткани

Содержание цитокинов в супернатантах гепатобиоптатов в зависимости от уровня АлАТ в сыворотке крови

Показатели (пг/мл)	Здоровые	АлАТ=N	АлАТ-до 3N	АлАТ>3N
ФНО-α	4,9±1,4	48,3±6,8* p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> <0,01	77,8±12,1** p <sub>3</sub> <0,05	101±12,4***
ИЛ-1α	16,4±2,9	56,2±4,1* p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> <0,05	60,1±3,8* p <sub>3</sub> <0,05	77,1±6,2*
ИЛ-12p40	6,8±0,9	149±22,8*** p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,05	165±38,1*** p <sub>3</sub> >0,05	202±57,9***
ИЛ-12p70	0,27±0,03	20,2±2,8** p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> <0,01	28,5±7,4** p <sub>3</sub> <0,05	33,9±4,5**
ИЛ-10	139,4±13,2	128,8±21,7 p <sub>1</sub> <0,05 p <sub>2</sub> <0,05	170±15,8* p <sub>3</sub> >0,05	166,8±15,1*
ИЛ-4	55,0±9,4	401±72,2*** p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,05	487±34,8*** p <sub>3</sub> >0,05	457±76,6***
ИЛ-2	29,0±2,8	11,9±4,7* p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,05	8,8±2,9* p <sub>3</sub> >0,05	6,9±2,7*
ИФН-α	64,4±2,9	7,9±2,7** p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> >0,05	9,1±3,5** p <sub>3</sub> >0,05	10±3,7**

Примечание:

1) различия в сравнении с контрольной группой достоверны: \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001;

2) достоверность различий между группами больных при разных уровнях АлАТ: p<sub>1</sub> – АлАТ=N и АлАТ – до 3N; p<sub>2</sub> – АлАТ=N и АлАТ>3N; p<sub>3</sub> – АлАТ – до 3N и АлАТ>3N.

печени (коэффициент ранговой корреляции Спирмена R=0,98, p=0,001; R=-0,89, p=0,001) (табл. 5), подтверждающая мнение S. Kanzler et al. (2001) и И.Г. Никитина с соавт (2003), что гиперпродукция сывороточного ИЛ-1α усиливает транскрипцию и синтез фактора роста гепатоцитов, приводящие к нарушению морфологических и функциональных свойств печени. Однако, мы не получили значимой корреляции между содержанием указанного цитокина как в сыворотке крови, так и в ткани печени (табл. 6), и выраженностью внепеченочных проявлений заболевания, что не позволяет подтвердить мнение Д.Х. Курамшина и соавт. (2002), В.Т. Ивашкина и соавт. (2003) о том, что ИЛ-

Таблица 5

Коэффициенты корреляции (R) между клинико-лабораторными, морфологическими параметрами и уровнем содержания цитокинов в сыворотке крови при ХВГС

Показатели	ИЛ-1α	ИЛ-2	ИЛ-4	ИЛ-10	ИЛ-12p40	ИЛ-12p70	ФНО-α	ИФН-γ
Длительность болезни	0,48	-0,91*	0,34	0,7*	0,33	0,2*	0,68*	-0,91*
Температура	0,50	0,1	0,38	0,4	0,22	0,4	0,55*	0,6
Аппетит	0,37	0,62	0,4	0,9	0,89*	0,21	0,67	0,25
Слабость	0,74*	-0,69*	0,21	0,4	0,92*	0,39	0,14	-0,9*
Тяжесть в правом подреберье	0,67*	0,39	0,98*	0,6	0,9	0,7	0,96*	0,21
Гепатомегалия	0,48	-0,42	0,84*	0,5	0,29	0,93*	0,99*	-0,23*
Спленомегалия	0,78	-0,2	0,92*	0,4	0,3	0,3	0,98*	-0,27*
Лимфаденопатия	0,48	0,4	0,89*	0,6	0,3	0,88*	0,9*	0,59
Энцефалопатия	0,55	-0,3	0,69	0,53	0,95*	0,9*	0,54	-0,41
ИГА	0,67	-0,64	0,58	0,93*	0,99*	0,87*	0,87*	-0,67
ИФ	0,41	-0,6	0,62*	0,96*	0,56	0,9*	0,91*	-0,49
Воспалительная инфильтрация	0,45	-0,54	0,39	0,85*	0,89*	0,89*	0,93*	-0,48
Некроз	0,65	-0,5	0,6	0,9*	0,67	0,96*	0,91*	-0,66
АЛТ	0,98*	-0,4	0,19	0,98*	0,45*	0,93*	0,61*	-0,55
Билирубин	0,16	0,6	0,7	0,6	0,49*	0,35	0,4	0,3
Общий белок	-0,89*	0,4	0,66	0,3	0,29	0,36	0,5	0,4
Тромбоциты	0,59	0,3	0,46	0,54	0,58	0,4	-0,89*	0,46

\* - достоверность уровней значимости  $p < 0,05$

Таблица 6.

Коэффициенты корреляции (R) между клинико-лабораторными, морфологическими параметрами и уровнем содержания цитокинов в супернатанте биоптатов печени при ХВГС

Показатели	ИЛ-1α	ИЛ-2	ИЛ-4	ИЛ-10	ИЛ-12p40	ИЛ-12p70	ФНО-α	ИФН-γ
Длительность болезни	0,38	-0,41	0,14	0,7	0,93*	0,2	0,68*	-0,7*
Температура	0,49	0,1	0,28	0,4	0,22	0,4	0,95*	0,31
Аппетит	0,98	0,49	0,05	0,9	0,89*	0,41	0,97*	0,49
Слабость	0,94*	0,37	0,31	0,4	0,92*	0,67*	0,84*	-0,9*
Тяжесть в правом подреберье	0,97*	0,31	0,88°	0,6	0,9*	0,7*	0,93°	0,41
Гепатомегалия	0,98*	-0,51	0,94*	0,5	0,29	0,3	0,98*	-0,65
Спленомегалия	0,78*	-0,6	0,83*	0,4	0,3	0,3	0,98*	-0,5
Лимфаденопатия	0,48	-0,89*	0,87*	0,6	0,3	0,2	0,96*	-0,31
Энцефалопатия	0,6*	-0,7	0,54	0,7	0,4	0,31	0,21	-0,92*
ИГА	0,95*	-0,7	0,47	0,88*	0,43	0,85*	0,88*	-0,69
ИФ	0,67*	-0,47	0,65*	0,97*	0,81*	0,87*	0,92*	-0,34
Воспалительная инфильтрация	0,91°	-0,52	0,96*	0,94*	0,88*	0,98*	0,89*	-0,2
Некроз	0,45	-0,46	0,7*	0,9*	0,23	0,94*	0,9*	-0,29
АЛТ	0,6*	-0,39	0,5	0,99*	0,5	0,85*	0,61*	-0,4
Билирубин	0,16	0,31	0,54	0,66*	0,5	0,56	0,5	-0,4
Общий белок	0,3	0,62*	0,38	0,32	0,46	0,3	0,2	0,1
Тромбоциты	0,59	0,5	0,5	0,3	0,47	0,6	0,59*	0,67

\*- достоверность уровня значимости  $p < 0,05$

I $\alpha$  вызывает выраженные системные реакции организма, обуславливая внепеченочные стигмы HCV-инфекции.

Биологические эффекты системной активности ФНО- $\alpha$  и ИЛ-4 очень разнообразны и перекликаются с ведущими клинко-патогенетическими синдромами при ХВГС (Жданов К.В. с соавт., 2002, Сенников С.И. с соавт., 2004, Herbein G., O'Brien W.A. et al., 2000, Neuman M.G. et al., 2001). Установлена достоверная связь уровней ИЛ-4, ИЛ-12p70 и ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови и супернатанте печени с клиническими показателями, отражающими активность системного воспалительного процесса при ХВГС, что можно объяснить в рамках концепции активации клеток макрофагальной системы, сопровождающейся реактивным увеличением размеров печени, селезенки, лимфоузлов (за счет нарастания пула тканевых макрофагов) и повышенной секрецией провоспалительных цитокинов. Известно, что гиперпродукция ФНО- $\alpha$  в сочетании с гиперсинтезом факторов роста (ГМ-КСФ и ТФР- $\beta$ ) способствует развитию отека тканей, что возможно объясняет формирование гепатомегалии у больных с заболеваниями печени (Царегородцева Т.М., 2003, Fabris C. et al., 1999, Casaril M. et al., 2000).

Нами зафиксирована зависимость между проявлениями энцефалопатии и уровнями ИЛ-12p40 и ИЛ-12p70 в сыворотке крови. Это подтверждает данные литературы о том, что гиперпродукция ИЛ-12p70 при инфекционном процессе может привести к избыточной активации иммунной системы с развитием иммунопатологических реакций (Фрейдлин И.С., 1999, Носик Н.Н., 2000). В пользу последнего утверждения свидетельствуют данные, полученные при изучении корреляции между показателями содержания их локальных уровней и выраженностью активности патологического процесса (ИГА), фиброза в печени.

Такие проявления заболевания, как вялость, слабость, изменение аппетита, тяжесть в правом подреберье частично находятся под контролем цитокинов (ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-12p40, ИЛ-12p70, ИФН- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$ ), что подтверждалось коэффициентом корреляции существенной значимости между их локальным уровнем и степенью выраженности клинических проявлений. В то же время, подобной корреляции с сывороточными показателями не обнаружено.

Количество провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\alpha$ , ФНО- $\alpha$ ), изомеров ИЛ-12 - p40 и p70, а также противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4 и ИЛ-10) значительно повышалось как в сыворотке крови, так и в супернатанте гепатобиоптатов по мере прогрессирования фиброза. Это свидетельствует о том, что при ХВГС чрезмерное повышение как системного, так и локального уровней ФНО- $\alpha$ , ИЛ-4, ИЛ-10 на фоне функционального дефицита Th1-лимфоцитов, активации гуморального звена иммунитета усугубляет прогрессирующий характер воспаления. Аналогичные предположения высказаны и другими учеными (Апросина З. Г. с соавт., 2002, Радченко В.Г. с соавт., 2004, Карпов С.Ю., 2005, Наследникова И.О. с соавт., Liu D. X., 2001, Ward S. et al., 2002). При изучении корреляционных взаимосвязей между исследуемыми цитокинами в различных биологических субстратах (сыворотке крови и супернатантах биоптатов печени) и выраженностью фиброза печени в баллах выявлена высокая степень корреляции между параметрами ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-12p70 и ФНО- $\alpha$ , что дает возможность использования их в качестве достоверных маркеров выраженности гепатоцеллюлярного повреждения (табл. 7). Наиболее значимыми для оценки выраженности фиброза явилось повышение уровней сывороточных цитокинов: ИЛ-4 (>5,6 пг/мл), ИЛ-10 (>35 пг/мл), ФНО- $\alpha$  (>14 пг/мл) и ИЛ-12p70 (>8,5 пг/мл). Следовательно, определенные интервалы параметров иммунитета могут служить критериями неблагоприятного течения болезни в

отношении фиброобразования. Результаты проведенного анализа корреляционных взаимосвязей между локальным уровнем цитокинов в органе-мишене - печени и некоторыми гистологическими параметрами внутридолькового и портального воспаления у больных ХВГС свидетельствуют о значимой корреляции между показателями, характеризующими активность патологического процесса в портальных

Таблица 7.

Коэффициенты корреляции (R) и уровни их значимости (p) между выраженностью фиброза (F) и показателями содержания сывороточных и локальных цитокинов при ХВГС

ЦИТОКИНЫ	Сыворотка						Супернатант печени					
	F1(1-4)		F2(5-8)		F3(9-12)		F1(1-4)		F2(5-8)		F3(9-12)	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
ИЛ-1 $\alpha$	0,1	0,8	0,09	0,7	0,65	0,01	0,14	0,7	0,33	0,2	0,68	0,001
ИЛ-2	-0,26	0,4	-0,33	0,2	-0,49	0,1	-0,28	0,4	-0,22	0,4	-0,95	0,001
ИЛ-4	0,97	0,001	0,87	0,001	0,98	0,001	0,95	0,01	0,89	0,001	0,97	0,001
ИЛ-10	0,96	0,001	0,93	0,001	0,94	0,001	0,91	0,01	0,92	0,001	0,94	0,01
ИЛ-12p40	0,1	0,8	0,99	0,001	0,97	0,001	0,18	0,6	0,9	0,7	0,93	0,001
ИЛ-12p70	0,94	0,01	0,93	0,001	0,98	0,001	0,94	0,01	0,99	0,01	0,98	0,001
ФНО- $\alpha$	0,87	0,001	0,9	0,001	0,98	0,01	0,93	0,01	0,9	0,01	0,98	0,001
ИФН- $\gamma$	-0,76	0,001	-0,67	0,01	-0,48	0,1	-0,17	0,6	-0,3	0,2	-0,96	0,001

трактах печени и концентрацией таких локальных цитокинов как ИЛ-4, ИЛ-10, ФНО- $\alpha$  и изомера ИЛ-12p70 (табл. 8). В то же время, отсутствовала зависимость между последними и внутридольковыми составляющими воспаления. Таким образом, тесная взаимосвязь между уровнями локальных цитокинов, таких как ИЛ-4, ИЛ-10, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-12p70 и гистологическими параметрами портального воспаления у больных ХВГС свидетельствует об иммуноопосредованных механизмах воспаления, протекающего в печени.

Таблица 8.

Корреляции между некоторыми гистологическими показателями и концентрацией локальных цитокинов в супернатанте печени при ХВГС

Гистологические показатели	Концентрация цитокинов (пг/мл)							
	ИЛ-1 $\alpha$	ИЛ-2	ИЛ-4	ИЛ-10	ИЛ-12p40	ИЛ-12p70	ФНО- $\alpha$	ИФН- $\gamma$
1. Внутривольковые некрозы	r=0,51 p<0,001	r=0,07 p=0,31	r=0,6 p=0,46	r=0,35 P=0,21	r=0,06 p=0,41	r=0,3 p=0,32	r=0,13 p=0,22	r=0,72 p<0,01
2. Внутривольковая инфильтрация	r=0,22 p<0,05	r=0,25 p<0,01	r=0,07 p=0,431	r=0,12 p=0,413	r=0,13 p=0,322	r=0,04 p=0,63	r=0,06 p=0,41	r=0,04 p=0,61
3. Портальные некрозы	r=0,06 p=0,446	r=0,66 p=0,41	r=0,25 p<0,01	r=0,36 p<0,001	r=0,17 p=0,8	r=0,43 p<0,05	r=0,33 p<0,01	r=0,26 p=0,13
4. Портальная инфильтрация	r=0,33 p=0,09	r=0,37 p=0,21	r=0,36 p<0,001	r=0,61 p<0,001	r=0,48 p=0,09	r=0,22 p<0,05	r=0,61 p<0,001	r=0,62 p=0,03
5. Лимфоидные фолликулы	r=0,06 p=0,411	r=0,13 p=0,322	r=0,56 p=0,32	r=0,59 p<0,001	r=0,43 p<0,05	r=0,61 p<0,001	r=0,63 p=0,13	r=0,79 p=0,19
6. Жировая дистрофия	r=0,59 p<0,001	r=0,04 p=0,631	r=0,35 p=0,210	r=0,12 p=0,17	r=0,61 p<0,001	R=0,82 p=0,48	r=0,06 p=0,53	r=0,93 p=0,30

Нами выявлена статистически достоверная сопряженность высокого уровня фиброза с частотой выявления РНК во всех трех биологических субстратах (в сыворотке крови –  $\chi^2=3,12$  и превышает  $\chi^2St$  при  $p=0,05$ , 1-й степени свободы; в лейкоцитах крови –  $\chi^2=2,82$  и превышает  $\chi^2St$  при  $p=0,04$ , 1-й степени свободы и гомогенизате биоптата печени –  $\chi^2=3,58$  и превышает  $\chi^2St$  при  $p=0,05$ , 1-й степени свободы), что указывает на влияние вирусной репликации на гепатоцеллюлярное повреждение (рис. 4). При этом частота выявления РНК при минимальной активности патологического процесса была максимальной в лейкоцитах крови и гомогенизатах печени (80% и 70% соответственно) (рис. 5). В то время как в сыворотке крови наиболее часто (60%) вирусный геном определялся при ИГА от 4 до 8 баллов. По мере прогрессирования гистологической активности (ИГА 9-12 баллов) РНК одинаково часто определялась в сыворотке крови и гомогенизатах печени (40% в обоих случаях). При этом частота выявления РНК не коррелирует с активностью ХВГС, оцениваемой по уровню повышения АлАТ ( $r=0,14$ ,  $p=0,509$ ) и генотипом возбудителя.

Выявлено наличие зависимости между активацией иммунологических показателей и процессом деструкции клеточных биомембран, на что указывают наличие прямой средней корреляционной связи между основанием Шиффа и уровнями локальных ИЛ-10 ( $r=0,59$ ,  $p<0,001$ ), ИЛ-12p70 ( $r=0,62$ ,  $p<0,001$ ) и ФНО- $\alpha$  ( $r=0,61$ ,  $p<0,001$ ), триенкетонами и содержанием локального ФНО- $\alpha$  ( $r=0,57$ ,  $p<0,001$ ), индексом окислительности и локального ИЛ-1 $\alpha$  ( $r=0,59$ ,  $p<0,001$ ), а также обратной корреляционной связи между диеновыми конъюгатами и локальным ИЛ-2 ( $r=-0,45$ ,  $p<0,01$ ), индекса окисленности и локальным ИФН- $\gamma$  ( $r=-0,72$ ,  $p<0,01$ ). Полученные результаты свидетельствуют о том, что при ХВГС дисбаланс системы цитокинов на локальном уровне ассоциируется с активацией процессов ПОЛ, что позволяет рассматривать

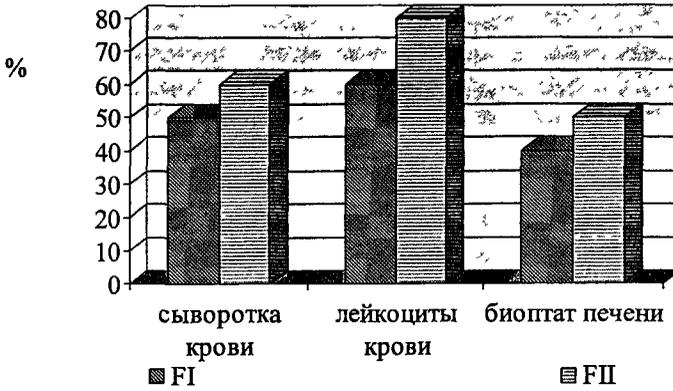


Рис. 4. Зависимость частоты выявления РНК HCV в сыворотке крови, лейкоцитах и печени больных ХВГС от стадии фиброза (F)

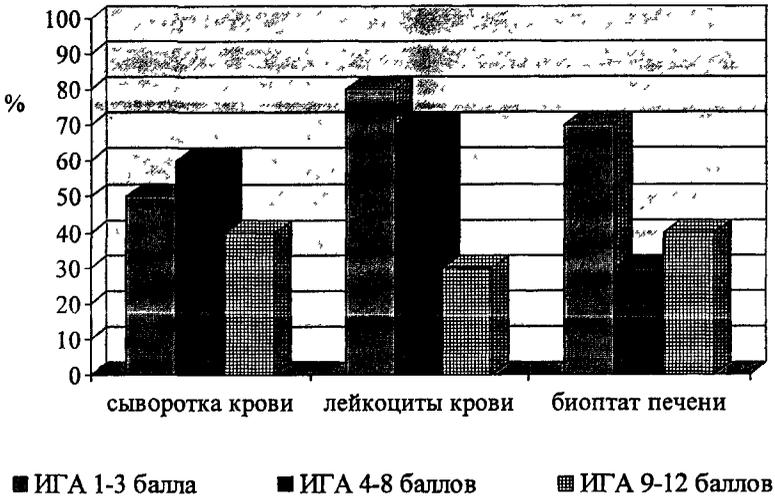


Рис. 5. Зависимость частоты выявления РНК HCV в сыворотке крови, лейкоцитах и печени больных ХВГС от степени повреждения гепатоцитов, определяемой по ИГА

печень как орган-мишень окислительного повреждения или окислительного стресса.

При хронической HCV-инфекции в организме развиваются количественные изменения белков острой фазы воспаления, в частности  $\alpha 1$ -КГП, обладающих антиоксидантными свойствами, разобщаются связи между продукцией белков острой фазы и синтезом промежуточных продуктов ПОЛ, выраженных в большей степени на локальном уровне (Назаров П.Г., 2001, Мансурова Ф.Х. с соавт., 2002, Par A. et al., 2000).

Нами установлено, что в сыворотке крови наблюдалось достоверное увеличение содержания  $\alpha 1$ -КГП почти в 6 раз по сравнению с нормой ( $1020,2 \pm 60,8$  мкг/мл против  $220,0 \pm 38,2$  мкг/мл соответственно,  $p < 0,05$ ). В то время как в супернатанте гепатобиоптатов уровень  $\alpha 1$ -КГП превышал нормальные значения более чем в 8 раз и составил  $1780,3 \pm 110,8$  мкг/мл против  $249,1 \pm 58,1$  мкг/мл соответственно, ( $p < 0,05$ ), однако его антиоксидантная активность была изменена. Это иллюстрируется отсутствием статистической достоверности корреляционной связи между конечным продуктом ПОЛ крови и уровнем  $\alpha 1$ -КГП в ткани печени у больных ХВГС ( $R=0,34$ ,  $p=0,2$ ). Вероятно, вследствие этого увеличивается интенсивность процессов перекисного окисления и происходит накопление конечных продуктов ПОЛ, что влияет на цитокиновую и морфологическую архитектуру пораженного органа-мишени. Доказательством этого служит наличие значимой корреляции между уровнем  $\alpha 1$ -КГП и локальным содержанием цитокинов, таких как ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-4, ИЛ-10 и ФНО- $\alpha$  ( $R=0,61$ ,  $p < 0,05$ ;  $R=0,71$ ,  $p < 0,01$ ;  $R=0,29$ ,  $p < 0,05$  и  $R=0,54$ ,  $p < 0,01$ ). Кроме этого, обнаружена значимая корреляция изучаемого показателя от стадии фиброза (при F1 -  $R=0,45$ ,  $p < 0,01$ ; при F2 -  $R=0,55$ ,  $p < 0,01$  и при F3 -  $R=0,47$ ,  $p < 0,05$ ).

Важное значение в развитии «окислительного стресса» придается фагоцитам – нейтрофилам и моноцитам, которые являются основными

продуцентами кислородных радикалов (Владимиров Ю.А., 2000, Rasek J. et al., 2001). Полученные нами результаты низких значений показателей НСТ-спонтанной пробы и стимулированного НСТ-теста и по отношению к показателям у здоровых свидетельствуют о сниженном ответе системы фагоцитов на активирующие факторы, истощении их кислородзависимого потенциала при хронической HCV-инфекции ( $0,021 \pm 0,002$  усл.ед. и  $0,027 \pm 0,002$  усл.ед. против  $0,04 \pm 0,002$  усл.ед. и  $0,054 \pm 0,005$  усл.ед. соответственно,  $p < 0,05$ ). Установлена слабая активация фагоцитов с истощением резервных возможностей кислородзависимых механизмов их бактерицидности, сопряженной с гиперпродукцией ИЛ-8, ИЛ-10 и ГМ-КСФ.

Функционирование иммунной системы находится в тесной связи с процессами ПОЛ и синтезом NO (Мартынова Т.В. с соавт., 2003, McVeigh G.E. et al., 2002, Rizk M., 2004). Наши исследования показали, что наряду с системными, имеет место преобладание местных механизмов нарушений нитроксидергических процессов при хронической HCV-инфекции в органе-мишени. При этом еще более выраженные нарушения указанных процессов на местном уровне зарегистрированы при высокой активности патологического процесса в ткани печени (рис. 6).

Высокий уровень генерации NO обусловлен активацией i-NOS, которая экспрессируется в гепатоцитах цитокинами ИЛ-1, ФНО- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$  (Тейлор Б.С. с соавт., 1998, Lubrano V. et al., 2003). Наши исследования позволили установить достоверные прямые корреляции локального уровня метаболитов NO и локальных концентраций ИЛ-1 $\alpha$  и ФНО- $\alpha$  ( $r = 0,76$ ,  $p < 0,01$  и  $r = 0,55$ ,  $p < 0,01$  соответственно). Полученные результаты свидетельствуют о том, что степень индукции провоспалительных цитокинов при обострении хронической HCV-инфекции определяет выраженность агрессии свободных кислородных радикалов в отношении

печеночной клетки. В результате исследований установлено, что уровень локального ИЛ-4 достоверно коррелировал с содержанием локальных

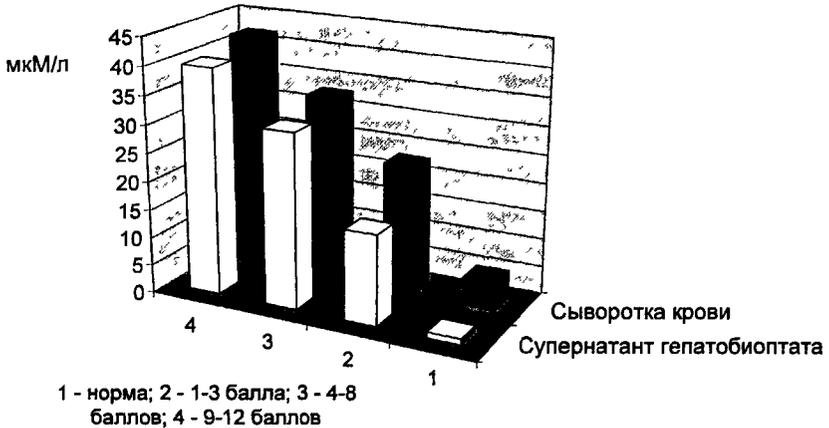


Рис. 6. Содержание метаболитов оксида азота в зависимости от выраженности ИГА (в баллах) в биологических субстратах при ХВГС

метаболитов NO в группе больных с умеренной и выраженной стадией фиброза ( $r=0,89$ ,  $p<0,05$  и  $r=0,58$ ,  $p<0,01$ ). Вероятно ИЛ-4 не способен ингибировать синтез NO в уже активированных ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 макрофагах. При этом была определена обратная зависимость между NO и локальной концентрацией ИЛ-2 при появлении и прогрессировании фиброза ( $r=-0,47$ ,  $p<0,01$  и  $r=-0,77$ ,  $p<0,01$ ). Полученные результаты отражают взаимосвязь нитросидергических процессов в печени и цитокинового дисбаланса как единого иммунопатологического механизма гепатоцеллюлярного повреждения вследствие инициации окислительного стресса. При изучении содержания метаболитов оксида азота в сыворотке крови и супернатантах гепатобиоптатов в зависимости от генотипа HCV достоверных отличий не обнаружено.

Особую актуальность приобретает изучение апоптоза при хронических вирусных заболеваниях печени, при которых он может быть

как результатом прямого воздействия вируса, так и опосредованным иммунной реакцией (Сапронов Г.В. с соавт., 2003, Darzinkiewicz Z., Juan J., 1997). Результаты наших исследований свидетельствуют о повышенном количестве CD95+ клеток в гомогенизатах печени у больных ХВГС ( $30,3 \pm 2,2\%$  против  $7,4 \pm 1,2\%$  у здоровых доноров,  $p < 0,05$ ), что согласуется с мнениями G. Kalkeri с соавт. (2001) и Н.В. Матаниной (2005) о повышенной экспрессии FAS-R на мембране гепатоцитов, инфицированных вирусом HCV-инфекции. Нами установлено, что у пациентов с минимальной и слабовыраженной активностью процесса уровень клеток, содержащих на своей поверхности маркер - CD95+ был достоверно выше, чем при умеренной активности ИГА ( $33,0 \pm 1,2\%$  против  $23,4 \pm 5,1\%$  соответственно,  $p < 0,05$ ). При этом зафиксировано достоверное снижение количества CD95+ клеток в гомогенизатах печени у пациентов с более высокими показателями ИГА и индекса фиброза. Обнаруженные более низкие значения антигена CD95+ в клетках гомогенизатов печени у пациентов с выраженным фиброзом, вероятно, являются следствием частичного замещения печеночной ткани на соединительную и, соответственно, снижением экспрессии Fas-антигена на гепатоцитах. Это указывает на существенную роль механизмов запрограммированной гибели клеток в патогенезе ХВГС. Согласно нашим исследованиям, снижение апоптотической активности клеток печени играет роль в прогрессировании некрзовоспалительных повреждений печени и может свидетельствовать об усилении дисфункции иммунной системы по мере прогрессирования болезни. Патогенетическая роль CD95+-зависимых механизмов гибели клеток печени носит двойственный характер: с одной стороны это ограничение иммунного воспаления и цитотоксичности в отношении гепатоцитов, с другой стороны – уменьшение интенсивности противовирусного иммунитета и ускользание вируса от эффекторных механизмов иммунной системы (Rodrigues C.M. et al., 2000, Toubi E. et al.,

2001). Исходя из этого представляет интерес оценка взаимоотношений между состоянием апоптоза и цитокиновой архитектоники непосредственно на органном уровне, в органе-мишени, печени, при хронической HCV-инфекции. Установлена достоверная отрицательная корреляция между концентрацией локальных цитокинов ФНО- $\alpha$  ( $r=-0,34$ ,  $p<0,01$ ), ИЛ-1 $\alpha$  ( $r=-0,56$ ,  $p<0,01$ ), ИЛ-10 ( $r=-0,66$ ,  $p<0,05$ ) и прямая корреляция между ИФН- $\gamma$ , ИЛ-2 и количеством проапоптотических CD95+-клеток ( $r=0,05$ ,  $p<0,01$  и  $r=0,25$ ,  $p<0,05$  соответственно), что, вероятно, свидетельствует о снижении противовирусной защиты на органном уровне с ослаблением апоптотических механизмов, способствующих персистенции HCV-инфекции.

Несмотря на успехи комбинированной терапии ИФН- $\alpha$  и рибавирином, остается достаточно многочисленная группа больных ХВГС, не отвечающих на лечение или демонстрирующих рецидив заболевания в течение ближайшего времени после прекращения терапии. P. Ferenci et al. (2001) было показано, что положительный терапевтический эффект стандартной терапии интерфероном и рибавирином достигается в случаях «переключения» иммунного ответа с Th2-типа на Th1-тип. Выявленные нами изменения в динамике содержания цитокинов на фоне проводимой комбинированной противовирусной терапии свидетельствуют о разнонаправленном характере их профиля у больных ХВГС в зависимости от раннего вирусологического ответа (табл. 9).

Полученная разнородность показателей цитокинов могла отражать различное функциональное состояние Т-лимфоцитов у больных со сниженной и сохранной пролиферативной активностью Т-клеток в ответ на комбинированную интерферонотерапию. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что положительный эффект стандартного противовирусного лечения у больных ХВГС ассоциировался с повышением уровня ИЛ-2, снижением уровней ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-12

(ИЛ-12p40 и ИЛ-12p70) и ИЛ-10. При этом он был зафиксирован у пациентов с отсутствием Т-клеточной анергии, условно названных «реактивными». С учетом полученных результатов можно предположить,

Таблица 9

Динамика изменений в цитокиновом профиле сыворотки крови исследуемых групп больных ХВГС в зависимости от эффекта проводимой терапии

Группы больных (n=45)	ИЛ-1α	ИЛ-2	ИЛ-4	ИЛ-10	ИЛ-12p40	ИЛ-12p70	ФНО-α	ИФН-γ
1-я группа (ответившие на ИФН-α терапию, n=25)	↓	↑	-	↓	↓	↓	↓	-
2-я группа (не ответившие на ИФН-α терапию, n=20)	-	-	-	-	↓	-	-	-

Примечание. Стрелка вверх (↑) – частота повышения уровня цитокина увеличилась; стрелка вниз (↓) – частота снижения уровня цитокина увеличилась; прочерк (-) – отсутствие выраженных изменений уровня цитокина. Изменения определялись сравнением показателей цитокинового профиля до лечения и после 3-х месяцев от начала терапии.

что эффективность противовирусной терапии прежде всего зависит от выраженности Т-клеточной анергии. Полученные нами данные частично согласуются с результатами P. Ferenci с соавторами (2001) и H. Wedemeyer (2003), которые считают, что комбинация ИФН-α с рибавирином вызывает умеренное повышение Th1-цитокинов (ИФН-γ, ИЛ-2, ИЛ-12).

Кроме этого важно отметить, что в группе «реактивных» больных уровень метаболитов оксида азота снижался на фоне стандартной терапии ( $22,7 \pm 2,1$  мкМ/л против  $33,5 \pm 2,5$  мкМ/л до лечения,  $p < 0,05$ ). Это позволяет считать, что оценка динамики метаболитов оксида азота в

сыворотке крови больных с существенным снижением его уровня является биохимическим признаком эффективности противовирусной терапии.

Установленная корреляция между содержанием ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-12p70 и ФНО- $\alpha$  непосредственно в ткани печени до лечения и в сыворотке крови через 12 недель от начала комбинированной терапии ХВГС, позволяет рассматривать их сывороточный профиль в качестве прогностических признаков (предикторов) вирусологического ответа на комбинированную противовирусную терапию, не прибегая к биопсии.

Выявленный дефект, представленный Т-клеточной анергией у 44,4% больных ХВГС на фоне проводимой комбинированной противовирусной терапии, служил показанием к назначению иммунокорректирующей терапии рекомбинантным ИЛ-2 у данной категории больных. Суммируя общие изменения в цитокиновом профиле и показателях оксидативного стресса у пациентов ХВГС, произошедшие после курса лечения рИЛ-2 на фоне продолжающейся противовирусной терапии, можно отметить следующие тенденции:

- отмечается активация Th1, на что указывает положительный баланс ИЛ-2;
- снижение уровней ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-12p70 и ФНО- $\alpha$  указывает на угасание воспалительной реакции;
- снижение уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови, что указывает на нормализацию нитроксидергических процессов.

Нами предложен алгоритм контроля эффективности противовирусной терапии с учетом иммунологических показателей для оптимизации этиопатогенетической терапии ХВГС (рис. 7).

Нашими исследованиями показано, что нарушение баланса продукции цитокинов Th1/Th2 клетками на системном и локальном уровнях играет важную роль в иммунопатогенезе HCV-инфекции, способствуя поражению печени, усиливая процессы прогрессирования

фиброза и портального воспаления у больных ХВГС. Это связано прежде всего со способностью ИЛ-4 и ИЛ-10 ингибировать функции Th1 и угнетать продукцию ИФН- $\gamma$  и ИЛ-2, что является одним из механизмов нарушения адекватного иммунологического реагирования при HCV-инфекции. Эти нарушения в большей или меньшей степени могут быть

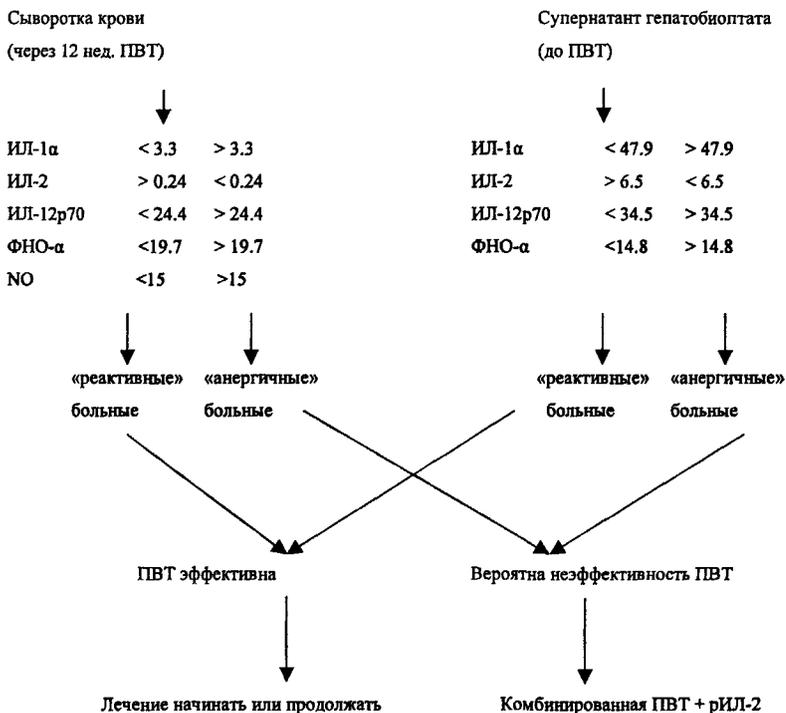


Рис. 7. Алгоритм оценки и оптимизации эффективности комбинированной противовирусной терапии (ПВТ) у больных ХВГС с учетом показателей цитокинов (пг/мл) и оксида азота (мкМ/л)

преодолены с помощью лечения больных препаратами ИФН- $\alpha$  в комбинации с рибавирином. Прогностические иммунологические показатели предложенные нами для оценки эффективности противовирусной терапии, следует рассматривать как необходимый компонент показаний для назначения противовирусной терапии. Выявленные иммунные нарушения на фоне комбинированной терапии

ХВГС у неответивших на лечение, побудили нас к поиску подходов, позволяющих их устранить. Обоснована эффективность применения рекомбинантного ИЛ-2 в комбинации с противовирусной терапией, поскольку доказана его способность сдвигать равновесие Th1/Th2 в сторону Th1, что снижает выработку провоспалительных цитокинов и ликвидирует дефицит эндогенного ИЛ-2. Отсутствие вирусологического ответа при проведении комбинированной противовирусной терапии с включением рИЛ-2 сопряжено с отсутствием активации Th1, связанной с низкими значениями ИЛ-2 и сохранением воспалительной реакции, на что указывает отсутствие снижения ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови. При этом неуспешность используемой терапии можно связать с вирусологическими особенностями, т.е. 1b генотипом, который зафиксирован у всех больных, не ответивших на лечение.

### **ВЫВОДЫ:**

1. Изменение содержания цитокинов Th1- и Th2- лимфоцитов на системном и локальном уровнях носит односторонний характер с преобладанием провоспалительных цитокинов в органе-мишени. Зафиксирована прямая взаимосвязь локального содержания ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-12p40, ИЛ-12p70 и ИЛ-10 с уровнем активности АлАТ в сыворотке крови и обнаружением 1b генотипа HCV.
2. Установлено, что у пациентов с умеренной активностью процесса, в подавляющем большинстве (78%) случаев, определялся генотип 1b, в то время как при минимальной активности обнаруживался генотип 3a (70%). У пациентов с нормальной и повышенной активностью АлАТ определены достоверные различия по основным морфологическим параметрам, характеризующим активность воспаления в печени. Выявлена сопряженность высокого уровня фиброза с частотой выявления РНК во всех трех

биологических субстратах (в сыворотке крови, клеточных элементах крови и тканях печени) независимо от генотипа HCV.

3. Отчетливая взаимосвязь между показателями, характеризующими активность патологического процесса в портальных трактах печени и концентрациями ИЛ-4, ИЛ-10, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-12p70 в ткани печени свидетельствует о преобладании иммуноопосредованных механизмов воспаления, протекающих в печени при ХВГС. Определена сопряженность указанных цитокинов с выраженностью стадии фиброза, что позволяет использовать их в качестве неинвазивных маркеров его диагностики.
4. Высокая активность процессов ПОЛ в сочетании с интенсивной индукцией локального синтеза нитроксида и провоспалительных цитокинов отражают единый механизм гепатоцеллюлярного повреждения вследствие инициации окислительного стресса.
5. Повышенное содержание  $\alpha 1$ -КГП в ткани печени у больных ХВГС обусловлено интенсивностью ПОЛ и накоплением его конечных продуктов, что влияет на цитокиновую и морфологическую архитектуру органа-мишени, в пользу чего свидетельствует взаимосвязь между уровнем  $\alpha 1$ -КГП в ткани печени и локальным содержанием цитокинов ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-4, ИЛ-10, ФНО- $\alpha$  и активностью стадии хронического процесса в печени.
6. Установлена слабая активация фагоцитов с истощением резервных возможностей кислородозависимых механизмов их бактерицидности, которые сопряжены с гиперпродукцией ИЛ-8, ИЛ-10 и ГМ-КСФ как на системном, так и на локальном уровнях при ХВГС.

7. Снижение апоптотической активности клеток печени при нарастании стадии фиброза и обратная корреляция с концентрацией локальных цитокинов ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\alpha$  свидетельствует об усилении дисфункции иммунной системы по мере прогрессирования болезни.
8. Положительный эффект стандартного противовирусного лечения у больных ХВГС ассоциирован с повышением уровня ИЛ-2, снижением уровней ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\alpha$ , субъединиц ИЛ-12 - p40 и p70, ИЛ-10 и снижением уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови у пациентов с отсутствием Т-клеточной анергии. Уровень ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-12p70 и ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови и ткани печени может быть использован в качестве дополнительных прогностических признаков (предикторов) ожидаемого раннего вирусологического ответа на противовирусную терапию.
9. Т-клеточная анергия, выявленная у 44,4% пациентов ХВГС на фоне комбинированного противовирусного лечения, служит показанием к дополнительному назначению иммунокорригирующей терапии рекомбинантным ИЛ-2.
10. Рекомбинантный ИЛ-2 в комплексной противовирусной терапии у «анергичных» больных оказывает влияние на положительный баланс ИЛ-2, снижение уровня ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-12p70 и ФНО- $\alpha$ , уменьшение концентрации метаболитов оксида азота и негативацию РНК HCV в сыворотке крови у 40% больных ХВГС.

#### **РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ ВНЕДРЕНИЯ В МЕДИЦИНСКУЮ НАУКУ И ПРАКТИКУ**

1. Отрицательный результат теста на РНК HCV в плазме и клетках крови не может служить надежным критерием, позволяющим исключить реактивацию HCV-инфекции, что свидетельствует о

- важности исследования гомогенизатов печени на присутствие вирусного генома.
2. Определение генотипической принадлежности HCV позволит косвенно судить о выраженности локальной дисфункции цитокинов и объяснить отсутствие эффективности этиопатогенетической терапии у больных с Т-клеточной анергией.
  3. Значимыми для оценки выраженности фиброза явилось повышение уровней сывороточных цитокинов: ИЛ-4 ( $>5,6$  пг/мл), ИЛ-10 ( $>35$  пг/мл), ФНО- $\alpha$  ( $>14$  пг/мл) и ИЛ-12p70 ( $>8,5$  пг/мл), что позволит использовать их для мониторинга фиброза печени, не прибегая к пункционной биопсии.
  4. Значения локальных уровней цитокинов в супернатантах гепатобиоптатов до значений ИЛ-1 $\alpha$  $\leq 47,9$  пг/мл, ИЛ-2 $\geq 6,5$  пг/мл, ИЛ-12p70 $\leq 34,5$  пг/мл и ФНО- $\alpha$  $\leq 14,8$  пг/мл перед планируемой противовирусной терапией, а при невозможности выполнить пункционную биопсию печени показатели сывороточных цитокинов в пределах значений для ИЛ-1 $\alpha$  $\leq 3,3$  пг/мл, ИЛ-2 $\geq 0,24$  пг/мл, ИЛ-12p70 $\leq 24,4$  пг/мл и ФНО- $\alpha$  $\leq 19,7$  пг/мл через 12 недель от начала проведения, могут служить прогностическими критериями ее эффективности.
  5. Существенное снижение уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови больных ХВГС является достоверным признаком эффективности противовирусной терапии.
  6. Т-клеточная анергия, выявленная на собственном материале у 44,4% пациентов на фоне комбинированного противовирусного лечения, служит показанием к назначению иммунокорригирующей терапии рекомбинантным ИЛ-2 у больных ХВГС.
  7. Больным, у которых через 12 месяцев на фоне комбинированной противовирусной терапии не последовало раннего

вирусологического ответа, рекомендовано назначение ронколейкина по схеме: 500 000 МЕ рекомбинантного ИЛ-2, растворенных в 400 мл физиологического раствора, совместно с 8 мл 10% раствора альбумина (для предотвращения потери его биологической активности), внутривенно медленно в течение 4 часов (со скоростью 1-2 мл/мин) два раза в неделю. Курс лечения составляет 8 недель (курсовая доза – 8 млн МЕ).

### СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Эффективность плазмафереза в лечении больных вирусным гепатитом / Л.Ф. Скляр, А.В. Калинин, В.А. Отрошенко и др. // Материалы научно-практической конференции «Новые методы диагностики и лечения». – Владивосток, 1998. – С. 72-74.
2. Парентеральные гепатиты среди медицинских работников Приморья / В.А. Иванис, Л.Ф. Скляр, А.В. Калинин и др. // Материалы 5-го Российского съезда врачей – инфекционистов. – Москва, 1998. – С. 120.
3. Вирусные гепатиты у больных с наркотической зависимостью / В.А. Иванис, Л.Ф. Скляр, А.В. Калинин и др. // Материалы международной научно-практической конференции «Транскультуральная психиатрия, психология». – Томск, 1999. – С. 250-252.
4. Применение экстракорпорального метода детоксикации в лечении вирусных гепатитов / Л.Ф. Скляр, А.В. Калинин, В.А. Иванис и др. // Материалы III Российской международной научно-практической конференции «Гепатит В, С и D – проблемы диагностики, лечения и профилактики». – Москва, 1999. – С. 87-88.
5. Калинин, А.В. Парентеральные вирусные гепатиты у больных с наркотической зависимостью / А.В. Калинин, Л.Ф. Скляр, В.А. Иванис // Материалы научно-практической конференции с международным участием «Современные проблемы диагностики и терапии гепатитов» - Харьков, 2000. – С. 54.
6. Роль метода ПЦР (полимеразной цепной реакции) в проблеме парентеральных вирусных гепатитов / Л.Ф. Скляр, В.А. Иванис, А.И. Симакова и др. // Материалы научно-практической конференции «Генодиагностика в практической медицине Дальнего Востока». – Владивосток, 2001. – С. 81.
7. Оптимизация диагностики вирусных гепатитов с использованием серологических маркеров, определения ДНК/РНК вирусов гепатита в ткани печени, лейкоцитах и сыворотке крови больных хроническим гепатитом / Л.Ф. Скляр, В.А. Иванис, А.И. Симакова и др. // Материалы научно-практической конференции с международным участием «Геномика, протеомика, биоинформатика для медицины». – Москва, 2002. – С. 253.
8. Скляр, Л.Ф. Клинико - иммунологическая эффективность применения ронколейкина при лечении хронического вирусного гепатита С / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова // Здравоохранение Урала. – 2002. – № 5. – С. 39-42.
9. Скляр, Л.Ф. Фактор некроза опухоли  $\alpha$  в сыворотке крови и биоптатах печени у больных с хроническим вирусным гепатитом С и его коррекция Ронколейкином /

- Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова // Цитокины и воспаление. – 2002. – Том 1, № 2. – С. 128.
10. Скляр, Л.Ф. Клиническая эффективность применения Ронколейкина при лечении хронических гепатитов с учетом критериев гематологических индексов интоксикации / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, А.И. Симакова // Цитокины и воспаление. – 2002. – Том 1, № 2. – С. 128-129.
  11. Ронколейкин при лечении хронических гепатитов с учетом клинико-лабораторных параметров эндогенного токсикоза и иммунной реактивности / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, В.А. Иванис и др. // Дальневосточный медицинский журнал инфекционной патологии. – 2002. – № 1. – С. 105.
  12. Скляр Л.Ф. Цитокиновый профиль сыворотки крови и биоптатов печени у больных хроническим вирусным гепатитом С / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2002. – № 3. – С. 28-29.
  13. Клинико-иммунологические параметры при хроническом вирусном гепатите "С" и их коррекция ронколейкином / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, А.И. Симакова и др. // Международный журнал иммунореабилитации. – 2002. – Том 4, № 2. – С. 278.
  14. Клинико-иммунологические параметры хронического вирусного гепатита С и их коррекция ронколейкином (англ.) / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, А.И. Симакова и др. // Международный журнал иммунореабилитации. – 2002. – Том 4, №3. – С. 457.
  15. Выявление РНК вируса гепатита С в сыворотке крови, лимфоцитах и ткани печени больных хроническим гепатитом "С" с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) / Л.Ф. Скляр, Т.А. Иванец, Е.В. Алейникова и др. // Материалы VIII съезда Итало-Российского общества по инфекционным болезням «Проблема инфекции в клинической медицине». – СПб, 2002. – С. 315-316.
  16. Ронколейкин в лечении больных хроническим вирусным гепатитом С (ХВГС) с учетом цитокинового статуса / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, Т.А. Иванец и др. // Материалы VIII съезда Итало-Российского общества по инфекционным болезням «Проблема инфекции в клинической медицине». – СПб, 2002. – С. 316-317.
  17. Скляр, Л.Ф. Цитокинотерапия рекомбинантным интерлейкином 2 (Ронколейкином) больных хроническим вирусным гепатитом С / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова // Цитокины и воспаление. – 2002. – Том 1, № 4. – С. 43-46.
  18. Клиническая эффективность применения Ронколейкина при лечении хронического вирусного гепатита "С" с учетом критериев гематологических индексов интоксикации / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, А.И. Симакова и др. // Материалы научно-практической конференции с международным участием «Современная терапия больных с инфекционной и паразитарной патологией на догоспитальном и госпитальном этапах, методы профилактики». – Харьков, 2002. – С. 56.
  19. Скляр, Л.Ф. Коррекция нарушений кишечного биоценоза жидким концентратом бифидобактерий при вирусных гепатитах / Л.Ф. Скляр, В.А. Иванис, С.А. Петухова // Материалы научно-практической конференции «Актуальные проблемы инфекционной патологии в Приморском крае». – Владивосток, 2002. - С. 32-34.
  20. Особенности генотипического спектра HCV-инфекции по материалам медицинского центра "Асклепий" г. Владивостока / Л.Ф. Скляр, Т.А. Иванец, Л.А. Богданова и др. // Материалы научно-практической конференции «Генодиагностика в практической медицине Дальнего Востока». – Владивосток, 2002. - С. 10-11.
  21. Пути улучшения диагностики диффузных заболеваний печени / А.Ф. Мальшев, В.А. Иванис, Л.Ф. Скляр и др. // Материалы научно-практической конференции «Генодиагностика в практической медицине Дальнего Востока». – Владивосток, 2002. - С. 11-13.

22. Коррекция ронколейкином показателей цитокинового статуса и параметров эндогенного токсикоза у больных хроническим гепатитом С в репликативную фазу / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, А.И. Симакова и др. // *Материалы научно-практической конференции «Генодиагностика в практической медицине Дальнего Востока»*. – Владивосток, 2002. - С. 17-20.
23. Эффективность применения корбикулина у больных хроническими вирусными гепатитами по данным доклинических и клинических испытаний / Л.Ф. Скляр, Н.С. Хильченко, Н.В. Плаксен и др. // *Материалы научно-практической конференции с международным участием "Здоровье и образование"*. – Пермь, 2003. - С. 257-260.
24. Оценка эффективности лечения хронических вирусных гепатитов В и С препаратом корбикулин / Н.С. Хильченко, Н.В. Плаксен, Л.Ф. Скляр и др. // *Материалы научно-практической конференции «Фундаментальные проблемы фармакологии» 2-го Съезда Российского научного общества фармакологов*. – Москва, 2003. - С. 264.
25. Фактор некроза опухоли- $\alpha$ , интерлейкин- $1\alpha$  и стабильные метаболиты азота в супернатантах гомогенизатов биоптатов печени при HCV-инфекции / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, М.И. Печеркина и др. // *Успехи современного естествознания*. – 2003. - № 8. - С. 74.
26. Скляр, Л.Ф. Уровень содержания некоторых цитокинов в сыворотке крови и биоптатах печени с учетом клинико - биохимических параметров активности при хроническом гепатите С / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова // *Материалы научно-практической конференции V Российской научно- практической конференции «Гепатит В,С и Д - проблемы диагностики, лечения и профилактики»*. – Москва, 2003. - С. 262-264.
27. Оксид азота, фактор некроза опухоли- $\alpha$ , интерлейкин- $1\alpha$  в биоптатах печени у больных хроническим вирусным гепатитом С / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, Н.В. Журавлёва и др. // *Медицинская иммунология*. – 2003. - Том 5, № 3-4. - С. 322-323.
28. Уровень фактора некроза опухоли  $\alpha$  в гепатобиоптатах и степень фиброза печени у больных с хроническим вирусным гепатитом "С" / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, Т.В. Жупанская и др. // *Аллергология и иммунология*. – 2003. – Том 4, № 2. - С. 112.
29. Скляр, Л.Ф. Синтез оксида азота у больных с манифестными и латентными формами хронического вирусного гепатита С / Л.Ф. Скляр // *Успехи современного естествознания*. – 2003. - № 11. - С.87–88.
30. Динамика уровня цитокинов как критерий эффективности терапии ронколейкином при хроническом вирусном гепатите С / Л.Ф. Скляр, В.А. Иванис, Е.В. Маркелова и др. // *Международный журнал иммунореабилитации*. – 2003. - Том 5, № 1. - С. 45–46.
31. Характеристика цитокинового профиля сыворотки крови и биоптатов печени больных хроническим вирусным гепатитом С / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, В.А. Иванис и др. // *Журнал инфекционной патологии*. – 2003. - Том 10, № 4. – С. 97-99.
32. Скляр, Л.Ф. Концентрация сывороточных интерферонов при хроническом вирусном гепатите С и их коррекция ронколейкином / Л.Ф. Скляр // *Материалы VI Российского съезда врачей – инфекционистов*. – СПб, 2003. - С. 357.
33. Системный и локальный статус некоторых цитокинов у больных с бессимптомными и манифестными формами хронического вирусного гепатита С / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, А.В. Калинин и др. // *Материалы VI Российского съезда врачей – инфекционистов, СПб.* – 2003. - С. 357-358.
34. Скляр, Л.Ф. Клинико-иммунологические и морфологические параллели при хроническом вирусном гепатите "С" / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова // *Международный журнал иммунореабилитации*. – 2003. - Том 6, №1. - С. 147–148.

35. Скляр, Л.Ф. Иммуноterapia Ронколейкином хронического вирусного гепатита С (методические рекомендации) / Л.Ф. Скляр, В.А. Иванис, Е.В. Маркелова // Владивосток: ВГМУ, 2003. – 36 с.
36. Роль изучения цитокинового профиля в иммунопатогенезе вирусных и бактериальных инфекций / В.А. Иванис, Е.В. Маркелова, Л.Ф. Скляр и др. // Материалы научно-практической конференции, посвященный юбилею ВМС УФСБ РФ по Приморскому краю «Применение современных медицинских технологий в Дальневосточном Федеральном округе». – Владивосток, 2004. - С. 191-195.
37. Скляр, Л.Ф. Локальный статус оксида азота, фактора некроза опухоли- $\alpha$ , интерлейкина-1 $\alpha$  у больных хроническим вирусным гепатитом С / Л.Ф. Скляр // Вестник Томского государственного университета. - 2004. - Том 3, № 1. - С. 92–93.
38. Скляр, Л.Ф. Клинико-лабораторные особенности хронического вирусного гепатита С в зависимости от морфологических изменений печени / Л.Ф. Скляр // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2004. - № 1. - Том XIV, Приложение № 22 (Материалы девятой Российской конференции "Гепатология сегодня"). - С. 24.
39. Скляр, Л.Ф. Цитокиновый и морфологический профиль при хроническом вирусном гепатите С / Л.Ф. Скляр // Аллергология и иммунология. – 2004. - Том 5, № 1. - С. 114.
40. Скляр, Л.Ф. Локальный цитокиновый статус при хроническом HCV-гепатите с учетом клинико-лабораторных показателей / Л.Ф. Скляр // Вестник Томского государственного университета. - 2004. - Том 4, №1. - С. 102-103.
41. Скляр, Л.Ф. Синтез оксида азота у больных с хроническим гепатитом С / Л.Ф. Скляр // Материалы IV научно - практической конференции «Инфекционная патология в Приморском крае». – Владивосток, 2004. - С. 102–103.
42. Скляр, Л.Ф. Локальный профиль цитокинов при хроническом гепатите С / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова // Материалы IV научно - практической конференции «Инфекционная патология в Приморском крае». – Владивосток, 2004. - С. 103-104.
43. Скляр, Л.Ф. Эффективность применения ронколейкина при лечении хронических вирусных гепатитов / Л.Ф. Скляр // Дальневосточный медицинский журнал инфекционной патологии. – 2004. - №5. - С. 69-75.
44. Скляр, Л.Ф. Ронколейкин в лечении хронического гепатита С / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, А.В. Калинин // Здоровье, медицинская экология, наука: Дальневосточный медицинский научно-практический журнал. - 2004. - № 4 - 5 (17 - 18). - С. 42-43.
45. Иммуномодулирующие эффекты ронколейкина в комплексной терапии хронического вирусного гепатита С (ХВГС) (англ.) / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, М.А. Дурнева и др. // Материалы XII Российско-Японского международного симпозиума Медицинского обмена. – Ниигата, 2004. - Том 10, № 8. - С. 437.
46. Значение цитокинового статуса в изучении иммунопатогенеза инфекционных болезней / В.А. Иванис, Л.Ф. Скляр, А.И. Симакова и др. // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2004. - № 2. - С. 36–39.
47. Локальные иммунные и морфологические изменения печени при хронических вирусных гепатитах (ХВГ) / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, О.Г. Полушин и др. // Материалы Российской научно - практической конференции «Узловые вопросы борьбы с инфекцией». – СПб, 2004. - С. 222.
48. Влияние противовирусной терапии на содержание сывороточных TN1 и TN2 цитокинов при хроническом вирусном гепатите "С" / Л.Ф. Скляр, В.А. Иванис, С.А. Петухова и др. // Аллергология и иммунология. – 2005. - Том 6, № 2. - С. 169.

49. Клинико-морфологические и иммунологические аспекты парентеральных гепатитов / Ю. В. Каминский, Л. Ф. Скляр, О. Г. Полушин и др. – Владивосток: Медицина ДВ, 2005. – 84 с.
50. Цитокиновый статус и фиброз при хроническом гепатите С / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, О.Г. Полушин и др. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2005. – Том XV, приложение №24 (Материалы десятой Российской конференции "Гепатология сегодня"). – С. 27.
51. Скляр, Л.Ф. Ронколейкин в лечении хронических вирусных гепатитов // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2005. - № 2. – С. 28-32.
52. Эффективность противовирусной терапии больных хроническим вирусным гепатитом С / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, В.А. Иванис и др. // Материалы XII Российского национального конгресса «Человек и лекарство», М. – 2005. – С. 548.
53. Скляр, Л.Ф. Эффективность разных схем противовирусной терапии при хроническом гепатите С с учетом некоторых показателей цитокинового статуса / Л.Ф. Скляр // Материалы VI Российской научно-практической конференции «Гепатит В, С и D - проблемы диагностики, лечения и профилактики». – М, 2005. - С. 313–314.
54. Алейникова, Е.В. Применение метода парных биопсий в диагностике хронических гепатитов / Е.В. Алейникова, О.Г. Полушин, Л.Ф. Скляр // Материалы VI Российской научно-практической конференции «Гепатит В, С и D - проблемы диагностики, лечения и профилактики», М. – 2005. - С. 10–12.
55. Скляр, Л.Ф. Патогенетическая роль нарушений локальной продукции цитокинов при HCV-инфекции / Л.Ф. Скляр // Медицинская иммунология. – 2005. - № 2-3. – С. 266-267.
56. Клинико-морфологические и иммунологические параллели при хронических вирусных гепатитах / Каминский Ю.В., Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова и др. // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2005. - № 1. - С. 17–20.
57. Распределение генотипов вируса гепатита С на территории Приморского края / Л.Ф. Скляр, В.А. Иванис, А.Ф. Попов и др. // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2005. - № 1. - С. 72–75.
58. Скляр, Л.Ф. Комбинированная терапия пегинтерфероном альфа-2в и рибавирином хронического гепатита С у больных с различными генотипами / Л.Ф. Скляр // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2005. - № 4 (42). – С. 96-97.
59. Возможности иммунотропной терапии хронического гепатита С в сочетании с корбикулином / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, И.П. Клепцова и др. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2005. - № 4 (42). – С. 97.
60. Скляр, Л.Ф. Значение системных и локальных показателей цитокинов в оценке гепатоцеллюлярного повреждения при HCV-инфекции / Л.Ф. Скляр // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2005. - № 4 (42). – С. 27-31.
61. Эффективность комбинированной терапии ронколейкином и корбикулином при лечении хронического гепатита С (англ.) / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, А.Ф. Попов и др. // Материалы Китайско-Российской международной конференции фармакологии. – Харбин, 2005. – С. 38.
62. Распространение генотипов HCV-инфекции в Приморском крае / Л.Ф. Скляр, В.А. Иванис, А.Ф. Попов и др. // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2005. - № 7. – С. 112.
63. Скляр, Л.Ф. Роль пункционной биопсии печени в диагностике хронического гепатита С / Л.Ф. Скляр, О.Г. Полушин, Е.В. Алейникова и др. // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2005. - № 7. – С. 114-115.

64. Скляр, Л.Ф. Апоптотическая активность и некровоспалительные изменения клеток печени при хроническом гепатите С / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2005. - № 7. – С.115.
65. Системный и локальный цитокиновый профиль при хроническом гепатите С / Л.Ф. Скляр, Н.Д. Никифоров, Е.В. Маркелова и др. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. - № 12. – С. 42-44.
66. Скляр, Л.Ф. Локальный статус цитокинов и клинико-морфологические параметры при хроническом вирусном гепатите С / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова // Вопросы вирусологии. – 2005. - № 6. - С. 14-18.
67. Скляр, Л.Ф. Способ лечения хронического вирусного гепатита С / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, А.В. Кропотов и др. // Бюл. № 34 от 10.12.2005, патент № 2265447.
68. Цитокиновый профиль при хроническом гепатите С / Л.Ф. Скляр, Н.Д. Никифоров, Е.В. Маркелова и др. // Клиническая медицина. – 2005. - № 10. – С. 40-45.
69. Хроническая HCV-инфекция: современные иммуноморфологические аспекты / под ред. Ю.В. Каминского, состав.: Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, О.Г. Полушин и др. // М.: Изд-во РУДН, 2006. – 213 с: ил.
70. Скляр, Л.Ф. Роль системы цитокинов в гепатоцеллюлярном повреждении при хроническом гепатите С / Л.Ф. Скляр // Медицинская иммунология. – 2006. – Т. 8, № 1. – С. 81-86.

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

**АКГП** – альфа-кислый гликопротеин  
**АлАТ** – аланинаминотрансфераза  
**АсАТ** – аспаргатаминотрансфераза  
**ГИС** – гистологический индекс склероза  
**ДК** – диеновые конъюгаты  
**ИГА** – индекс гистологической активности  
**ИЛ** – интерлейкины  
**ИФН** - интерферон  
**ИФН-γ** – интерферон II типа  
**ПОЛ** – перекисное окисление липидов  
**ППР** - полимеразная цепная реакция  
**РНК** – рибонуклеиновая кислота  
**Т-лимфоциты** – тимусзависимые лимфоциты  
**ФНО-α** – фактор некроза опухоли альфа  
**ХВГС** – хронический вирусный гепатит С  
**Anti-cor** – антитела к кор протеинам  
**Anti-HCV** – антитела к вирусу гепатита С  
**Anti-NS** – антитела к неструктурным протеинам  
**CD4** – маркер Т-хелперов  
**CD8** – маркер цитотоксических Т-лимфоцитов  
**CD95** – рецептор к Fas-лиганду (маркер готовности клетки к апоптозу)  
**HCV** – вирус гепатита С  
**i-NOS** – индуцибельная NO-синтаза  
**NO** – оксид азота  
**NOS** - NO-синтаза  
**Th1** – Т-хелперы 1 типа  
**Th2** – Т-хелперы 2 типа  
**FAS** – белок клеточной гибели

Скляр Лидия Федоровна

**СИСТЕМА ЦИТОКИНОВ  
И ПОКАЗАТЕЛИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА  
ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ «С»  
С УЧЕТОМ ИММУНОКОРРИГИРУЮЩЕЙ ТЕРАПИИ**

**Автореферат диссертации  
на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук**

Подписано в печать 23.03.2006

Формат 60 × 84/16

Уч. изд. л. 2,0

Усл. печ. л. 3,25

Тираж 100 экз.

Заказ № 122

---

Отпечатано в типографии ИПК МГУ им. адм. Г.И. Невельского  
690059 г. Владивосток, ул. Верхнепортовая, 50а

2006A  
7344

2-7344