005007059

На правах рукописи

КОНСТАНТИНОВА

Елена Александровна

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ РАЗВИТИЯ И ЛЕЧЕНИЕ РЕЦИДИВА ХРОНИЧЕСКОГО HBeAg-НЕГАТИВНОГО ГЕПАТИТА В

14.01.09 – инфекционные болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

12 ЯНВ 2012

Санкт-Петербург - 2011

Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук профессор **Суздальцев Алексей Александрович**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук профессор **Жданов Константин Валерьевич**

доктор медицинских наук профессор **Кузнецов Николай Ильич**

Ведущая организация – ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

Защита состоится «13» 02 2012 года в 10 часов на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 215.002.01 при ФГВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ по адресу: 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6.

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова

Автореферат разослан «23» 12 2011 года

Ученый секретарь совета
доктор медицинских наук профессор
Пономаренко Геннадий Николаевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. По данным ВОЗ, хроническая инфекция, вызванная вирусом гепатита В, является глобальной медико-социальной проблемой и занимает одно из первых мест среди вирусных заболеваний человека: в мире насчитывается более 400 млн. инфицированных, из которых в России – около 5 млн. человек (Михайлов М.И., 2009; Шахгильдян И.В. и соавт., 2009). Актуальность гепатита В обусловлена также высокой вероятностью исхода хронического гепатита в цирроз и первичный рак печени (Майер К.П., 1999; Шерлок Ш., Дули Дж., 1999). Вероятность развития неблагоприятных исходов возрастает почти в 7 раз у больных с рецидивом хронического HBeAg-негативного гепатита В (Лобзин Ю.В. и соавт., 2009; Жданов К.В. и соавт., 2009, 2011; Никитин И.Г., 2010; Kellam P., Das A. et al., 2008).

В последние годы достигнут большой прогресс в области изучения хронического гепатита В (ХГВ), включая самые разные аспекты данной проблемы: завершены крупные эпидемиологические исследования, изучена структура и циклы развития вируса, созданы новые лекарственные препараты, подавляющие репликацию вируса, получены отдаленные результаты их использования (Журкин А.Т., 2005; Лобзин Ю.В. и соавт., 2008; Жданов К.В., 2010; Ющук Н.Д. 2010; Lee W.M., 1997; McMahon B.J., 2005; Chang, T.T. et al., 2008).

Одной из актуальных остается проблема возникновения рецидива ХГВ. Неплохие результаты в лечении больных ХГВ были получены благодаря современным лекарственным препаратам. Так, например, аналог нуклеозида – ламивудин – обладает высокой противовирусной активностью и эффективно подавляет репликацию вируса гепатита В (Игнатова Т.М. и соавт., 2005; Абдурахманов Д.Т. и соавт., 2010). Однако после прекращения лечения ламивудином частота развития рецидива ХГВ достигает почти 50% (Крель П.Е. и соавт., 2005; Сологуб Т.В. и соавт., 2007; Lok A.S., McMahon B.J., 2007).

В литературе приводятся противоречивые данные о причинах формирования рецидива. Некоторые авторы связывают неэффективность противовирусных препаратов с их неспособностью обеспечить клиренс ДНК в гепатоцитах (Sung J.J.Y. et al., 2006, Klenerman P.T., 2008). Другие указывают на развитие иммунных дисфункций при ХГВ (Козлов В.К. и соавт., 2010; Lang K.S., Georgiev P., Recher M. et al., 2006; Lopes A.R. et al., 2008). Взаимодействие вируса гепатита В с макроорганизмом происходит иммуноопосредованно, в результате чего больных ХГВ целесообразно рассматривать как иммунокомпрометированных лиц (Bertoletti A., 2008). Элиминация вируса гепатита В в этом случае становится возможной лишь при индукции эффективного иммунного ответа (Protzer U., 2008). Это определяет интерес к дальнейшему изучению как факторов, способствующих развитию рецидива у больных ХГВ, так и разработку тактики ведения и лечения данной категории больных.

Цель исследования. Изучить клинико-биохимические, иммунологические и морфологические изменения, возникающие при рецидиве хронического HBeAg-негативного гепатита В, разработать дополнительные критерии его прогнозирования, повысить эффективность лечения.

Задачи исследования

1. Провести комплексное клинико-лабораторное обследование больных с рецидивом хронического HBeAg-негативного гепатита В.

2. Оценить состояние клеточного звена иммунной системы у пациентов хроническим HBeAg-негативным гепатитом В до и после развития рецидива.

3. Определить прогностическое значение отдельных биохимических и иммунологических показателей в развитии рецидива хронического HBeAg-негативного гепатита В.

4. Изучить особенности морфологических изменений в ткани печени у больных с рецидивом хронического HBeAg-негативного гепатита В в зависимости от уровня аланинаминотрансферазы (АЛАТ).

5. Оценить эффективность применения рекомбинантного интерлейкина-2 человека (ронколейкин) в комплексной терапии рецидива хронического HBeAg-негативного гепатита В.

Научная новизна. Проанализирована динамика клинико-биохимических показателей, клеточных факторов иммунитета у больных хроническим HBeAg-негативным гепатитом В до и после развития рецидива заболевания.

Определены особенности течения рецидива хронического HBeAg-негативного гепатита В у пациентов в зависимости от уровня содержания HBsAg. Выявлены корреляционные связи между активностью АЛАТ и морфологическими параметрами активности хронического HBeAg-негативного гепатита В у больных с рецидивом заболевания.

Разработаны критерии прогнозирования развития рецидива заболевания методом дискриминантного анализа. Показано, что эффективность комбинированного лечения больных с рецидивом хронического HBeAg-негативного гепатита В с применением рекомбинантного интерлейкина-2 человека в достижении стойкого ответа (через 12 месяцев после завершения противовирусной терапии) составляет 68,8%.

Практическая значимость. Разработан диагностический модуль и научно обоснованна целесообразность определения отдельных биохимических показателей и клеточных факторов иммунитета, позволяющих достоверно оценивать динамику патологического процесса у больных хроническим HBeAg-негативным гепатитом В.

Предложенная математическая (дискриминантная) модель прогнозирования развития рецидива у больных хроническим HBeAg-негативным гепатитом В является основой для определения тактики лечения у данной категории больных.

Разработана и внедрена схема лечения больных с рецидивом хронического HBeAg-негативного гепатита В, применение которой позволяет повысить эффективность лечения.

Личное участие автора в получении результатов. Автор участвовал в клиническом обследовании и лечении больных, сам выполнил ряд диагностических тестов, организовал проведение лабораторных и инструментальных исследований. Диссертант разработал формализованную историю болезни для больных ХГВ, осуществил анализ медицинской документации, формирование

базы данных, статистическую обработку и обобщение полученных результатов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Рецидив хронического HBeAg-негативного гепатита В характеризуется наличием более выраженных клинических (астеновегетативного, диспепсического, правого подреберья, гепатомегалии) и биохимических (цитолитического, мезенхимально-воспалительного) синдромов, а также дисбалансом клеточного звена иммунитета как до начала противовирусной терапии, так и после её завершения.

2. У больных с высоким уровнем HBsAg зарегистрированы достоверно выраженные изменения биохимических и иммунологических показателей и установлена высокая концентрация вирусной ДНК HBV в сыворотке крови. Прогностически значимыми в развитии рецидива заболевания являются биохимические (билирубин) и иммунологические (абсолютное количество лейкоцитов и $CD4^+$, $CD8^+$ - лимфоцитов, относительное количество лимфоцитов, $CD3^+$ и $CD8^+$ - лимфоцитов) показатели крови.

3. Степень активности патологического процесса в ткани печени у больных с рецидивом хронического HBeAg-негативного гепатита В в 53,8% случаев характеризуется как умеренная и выраженная. Уровень активности АЛАТ является не самым информативным критерием оценки морфологической активности при рецидиве заболевания.

4. Включение отечественного рекомбинантного интерлейкина-2 человека в комбинированную терапию больных с рецидивом хронического HBeAg-негативного гепатита В приводит к повышению эффективности лечения на 24,3%.

Реализация и внедрение результатов исследования. Полученные данные использованы в научной, учебной и лечебной работе кафедры инфекционных болезней с курсом эпидемиологии ГБОУ ВПО СамГМУ МЗСР РФ, внедрены в практику работы Самарского областного гепатологического центра, клиники инфекционных болезней ГБОУ ВПО СамГМУ МЗСР РФ, инфекционных больниц гг. Самара, Тольятти, Чапаевск, Сызрань.

Апробация и публикация материалов исследования. Основные положения диссертации доложены, обсуждены и представлены на VI съезде аллергологов и иммунологов СНГ, Российском национальном конгрессе аллергологов и иммунологов, (Москва, 2006), на II и III Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням (Москва, 2010, 2011), на VII Российской научно-практической конференции с международным участием «Вирусные гепатиты – эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика» (Москва, 2007), на Российской конференции «Гепатология сегодня» (Москва, 2008, 2009, 2010), на заседании Самарского отделения Всероссийского научного общества инфекционистов (г. Самара, 2011), на конференции молодых исследователей ГБОУ ВПО СамГМУ МЗСР РФ «Аспирантские чтения» (г. Самара, 2008). Материалы диссертационной работы апробированы на межкафедральном заседании ГБОУ ВПО СамГМУ МЗСР РФ 24 ноября 2011г. (протокол №1).

По теме диссертации опубликовано 20 печатных работ, в том числе три статьи в рецензируемых журналах ВАК РФ. Получен патент на изобретение РФ

№ 2365381 «Способ лечения хронического вирусного гепатита В».

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа изложена на 194 страницах, снабжена 28 таблицами и 41 рисунком, в том числе 6 фотоиллюстрациями. Список литературы включает 365 источников, из которых 180 отечественных и 185 зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Проведено комплексное клинико-эпидемиологическое, лабораторное и инструментальное обследование больных, находившихся на лечении в клинике инфекционных болезней ГБОУ ВПО СамГМУ МЗСР РФ и Областном гепатологическом центре за период с 2006 по 2011 год.

На первом этапе исследования проводился анализ полученных данных в трех группах пациентов для выявления статистически значимых различий.

1 группа (основная) – больные с рецидивом хронического HBeAg-негативного гепатита В (HBeAg- ХГВ) (ДНК+) (n=110). В эту группу включались пациенты с биохимическим и вирусологическим ответом, ранее получавшие противовирусную терапию (ПВТ) ламивудином (зеффикс) в течение 12 мес., у которых через год после прекращения лечения произошло повторное обнаружение сывороточной HBV ДНК (рецидив).

2 группа – больные хроническим HBeAg-негативным гепатитом В со стойким ответом (HBeAg- ХГВ СО) (ДНК-) (n=60). Эту группу составили пациенты, которые прошли 12-месячный курс ПВТ ламивудином и через год после прекращения лечения методом ПЦР сывороточная HBV ДНК не определялась.

3 группа – «наивные» (первичные, не получавшие ПВТ) больные HBeAg-ХГВ (ДНК +) (n=150). Контрольная группа - здоровые лица (доноры) (n=50).

Критерием исключения из исследования были пациенты с циррозом печени, гепатитом С и другими причинами поражения печени, с ВИЧ-инфекцией, аутоиммунными заболеваниями, клинически значимыми заболеваниями сердечно-сосудистой системы, патологией эндокринной системы и нарушениями обмена веществ с избыточной массой тела, системными инфекциями, злокачественными новообразованиями, а также пациенты, получавшие иммуносупрессивную терапию, злоупотреблявшие алкоголем, употреблявшие наркотики.

На втором этапе исследования в 1-й и 2-й группах больных после получения основных результатов сравнения был проведен статистический и корреляционный анализ лабораторных данных, полученных в каждой группе пациентов до противовирусного лечения ламивудином и после его завершения. На основании полученных данных разработана математическая модель прогнозирования развития рецидива у больных HBeAg- ХГВ.

На третьем этапе исследования обоснована схема применения иммуноориентированного препарата рекомбинантного интерлейкина-2 человека (ронколейкин) у больных с рецидивом HBeAg- ХГВ и проведена оценка эффективности комбинированной (противовирусной + иммуноориентированной) терапии у

данной категории больных. Препараты назначались следующем образом: ламивудин (зеффикс) 1 таб. в день, продолжительностью 12 мес. Курс иммуноориентированной терапии включал в себя внутривенное капельное введение ронколейкина в дозе 500 000 МЕ со скоростью 1-2 мл/мин, в течение 4-6 часов 2 раза в неделю – 1 месяц, затем указанный препарат вводили подкожно по 500 000 МЕ 2 раза в неделю в течение 2-х месяцев. Далее препарат вводили подкожно на 12-м месяце лечения по 500 000 МЕ 2 раза в неделю - 1 месяц.

Среди больных с рецидивом HBeAg- ХГВ мужчин было - 69 (63%), женщин – 41 (37%). Возраст пациентов был от 17 до 50 лет и составил в среднем 33,17±8,82 лет, при этом значимых различий по полу и возрасту не было.

Диагноз хронического вирусного гепатита выставлялся в соответствии с рекомендациями, принятыми Всемирным конгрессом гастроэнтерологов (WCOG, Лос-Анжелес, 1994), согласно рекомендациям Европейской ассоциации по изучению заболеваний печени (EASL, 2009), Американской ассоциации по изучению заболеваний печени (AASLD, 2007).

Исследование биохимических параметров функции печени в сыворотке крови проводили на автоматическом биохимическом анализаторе «Hitachi – 902» фирмы «Roch-Diagnostics».

Исследование клеточного звена иммунитета производилось путем определения относительного (процентного) и абсолютного числа зрелых Т-лимфоцитов. Для постановки реакции использовали стандартную панель моноклональных антител производства Becton Dickinson, включающую антитела к $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$ – дифференцировочным антигенам лейкоцитов, и соответствующие изотипические контроли.

Для подтверждения вирусной этиологии хронического гепатита использовался метод ИФА с определением HBsAg, HBeAg, anti-HBc, anti-HBe, anti-HBs в сыворотке крови на анализаторе Architect i2000. Количественное определение HBsAg производилось на базе отечественной («Аквапаст») и франко-израильской тест-систем («Иммунокомб» фирмы «Orgenics»).

Обнаружение вируса гепатита В проводилось методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени с количественным определением ДНК вируса.

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости проводилось на сканере Toshiba 370A Power vision 6000 с использованием двух мультичастотных датчиков (конвексного 3,0-6,0 Мгц и линейного 6,0-11,0 Мгц).

Для определения степени активности и стадии хронического гепатита, а также для уточнения особенностей поражения печени использовались данные морфологического исследования с определением индекса гистологической активности (ИГА) Knodell и гистологического индекса склероза (ГИС) Desmet полуколичественным методом оценок, полученные при пункционной биопсии.

Статистическая обработка и графическая визуализация данных производилась в соответствии с технологией современного компьютерного анализа (на IBM-совместимом персональном компьютере с использованием приложений Microsoft Excel пакета Office 2007 и Statistica 7.0, for Windows (Боровиков В.П., 2003). Полученные данные подвергались математико-статистической обработ-

ке, включавшей сравнительный, корреляционный и дискриминантный виды анализа, а также дескриптивное оценивание (Гланц С., 1999; Кобзарь А.И., 2006).

Результаты исследования

В группе больных с рецидивом заболевания зарегистрировано более выраженное проявление основных клинических синдромов. Астеновегетативный синдром регистрировался у 98% против 28,3% пациентов HBeAg- ХГВ СО. Диспепсический отмечался у 90,9%, синдром правого подреберья - у 97,3%, гепатомегалия - у 81% пациентов с рецидивом HBeAg- ХГВ. Аналогичные синдромы регистрировались у больных HBeAg- ХГВ СО, только с меньшей частотой (30%, 15% и 38,3% соответственно, $p<0,05$). При сопоставлении полученных результатов с данными группы пациентов с впервые выявленным HBeAg- ХГВ (не получавших ПВТ) мы также отметили наличие жалоб, определяющих основные клинические синдромы, у меньшего процента обследуемых ($p<0,05$).

Проведенный анализ доказал, что с наличием рецидива HBeAg- ХГВ степень выраженности клинических симптомов возрастает.

Активность АЛАТ и АСАТ у больных с развившимся рецидивом до начала терапии составляла соответственно 126,66±5,68 Ед/л и 64,03±3,18 Ед/л. Превышение АЛАТ зарегистрировано у 90,9%, АСАТ - у 78,2% больных. В группе сравнения (у больных HBeAg- ХГВ СО) показатель АЛАТ достоверно не отличался (122,61±7,98 Ед/л), а по АСАТ была получена достоверная разница (54,84±2,71 Ед/л, $p<0,01$).

У больных с рецидивом HBeAg- ХГВ до начала ПВТ ламивудином было зафиксировано повышение билирубина (27,53±0,99 мкмоль/л) по сравнению с пациентами, у которых в последующем получен СО после проведенного курса ПВТ ламивудином (21,04±0,53 мкмоль/л, $p<0,001$). Показатели тимоловой пробы также достоверно отличались и были зарегистрированы у «рецидивистов» на уровне 5,80±0,16 ед по сравнению с «ответчиками» 4,90±0,02 ед ($p<0,001$). По остальным показателям печеночного профиля достоверных различий до начала ПВТ у больных двух групп отмечено не было. У всех пациентов биохимические показатели достоверно были изменены по отношению к группе здоровых лиц.

После проведенного курса ПВТ мы проанализировали полученные результаты в тех же группах. У больных с рецидивом HBeAg- ХГВ при анализе биохимических показателей зарегистрировано повышение активности АЛАТ у 87,3% пациентов (117,86±5,91 Ед/л), АСАТ у 46,4% (70,71±4,03 Ед/л), также отмечено увеличение тимоловой пробы (5,41±0,19 ед) и ГГТП (55,14±2,68 Ед/л) у 86,4% и 65,5% больных соответственно. Снижение альбумина установлено у 75,4% (52,60±0,82 %), что свидетельствовало о глубине процессов цитолиза.

Рецидив заболевания встречался в 62,7% случаев среди больных, у которых на старте ПВТ регистрировался выраженный цитолитический и мезенхимально-воспалительный синдромы. В группе больных HBeAg- ХГВ СО исследуемые основные биохимические показатели были приближены к нормальным

значениям.

Для выявления патогенетического значения изменений клеточного звена иммунитета в развитии рецидива заболевания проводилось иммунологическое исследование уровней экспрессии мембранных антигенов $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$ лимфоцитов периферической крови у больных в двух группах до лечения ламивудином и через 12 мес. после лечения.

Наличие большого количества вирусных антигенов сопровождалось нарастающей недостаточностью (количественной и функциональной) Т-клеток, что определялось уменьшением практически всех Т-клеточных популяций. Сравнения показателей клеточного звена иммунитета между мужчинами и женщинами всех групп статистически значимых отличий не выявили, в результате чего нами были использованы средние значения показателей клеточного звена у исследуемых групп.

При оценке показателей клеточного звена иммунной системы как в группе больных с развившимся рецидивом, так и у группы пациентов со СО до лечения ламивудином отметили снижение общего числа лейкоцитов (4,31±0,08 и 4,87±0,17x10^9/л соответственно, $p<0,001$), абсолютного числа лимфоцитов (1,67±0,05 и 1,78±0,06, $p<0,001$) при сравнении с группой здоровых лиц.

Результаты исследования показали, что у больных с рецидивом HBeAg- ХГВ были зарегистрированы достоверно более выраженные изменения в клеточном составе, чем в группе пациентов HBeAg- ХГВ СО. Уровень относительного и абсолютного количества $CD3^+$ в периферической крови у пациентов с рецидивом составил 60,58±0,36% и 0,92±0,04x10^9/л, $CD4^+$ - 36,28±0,73% и 0,48±0,02x10^9/л, $CD8^+$ - 19,04±0,47% 0,32±0,01x10^9/л, $CD16^+$ - 11,49±0,52% и 0,13±0,01x10^9/л; $p<0,001$. При анализе аналогичных показателей в группе больных HBeAg- ХГВ СО до начала ПВТ мы зарегистрировали не отличающиеся от нормы показатели процентного и абсолютного количества $CD3^+$-лимфоцитов при сопоставлении с группой здоровых лиц (66,37±0,75% и 1,18±0,07x10^9/л соответственно $p=1,000$), а также относительного количества $CD4^+$- 39,35±1,12%, $p=1,000$. По остальным субпопуляциям лимфоцитов получили достоверные изменения в сторону их снижения.

Таким образом, полученные данные указывают на изменения у больных субпопуляционного состава лимфоцитов в виде их снижения до начала терапии независимо от её исхода.

Понять кинетику иммунного ответа при рецидиве HBeAg- ХГВ позволил анализ динамики иммунологических показателей после завершения ПВТ, в результате чего при повторном исследовании данных показателей клеточного звена иммунитета у больных двух групп мы отметили ряд существенных изменений.

У пациентов 1-й группы регистрировалось повышение относительного количества общих лимфоцитов (31,69±0,88%) и $CD3^+$ лимфоцитов (67,63±0,65%), что статистически достоверно отличалось от показателей 2-й группы (39,06±1,84%; $p_{1-2}<0,001$) и здоровых лиц (25,68±0,37%; $p_0<0,001$). Все остальные показатели (абсолютное количество $CD3^+$ (1,04±0,04x10^9/л), $CD4^+$ (0,60±0,02x10^9/л), $CD8^+$ (0,42±0,01x10^9/л), $CD16^+$ (0,30±0,01x10^9/л) и процент-

ное количество $CD8^+$ (22,75±0,51%) и $CD16^+$ (14,11±0,54%) были ниже нормы (p_0<0,001) за исключением относительного количества $CD4^+$ лимфоцитов (38,72±0,61%), которые достоверно не отличались от показателей здоровых лиц (40,18±0,49%; p_0=1,000), но значимо были снижены по сравнению с больными 2-й группы (44,07±0,96%; p_{1-2}<0,001).

Анализ частоты встречаемости клеточных иммунодефицитов был проведен в двух группах пациентов до и после лечения. У больных 1-й группы с рецидивом инфекции снижение показателей клеточного звена было выявлено в 91,8%, во 2-й группе - в 93,3% наблюдений. Статистически достоверных данных до начала терапии по встречаемости клеточного иммунодефицита у пациентов разных групп получено не было. Этот факт подтверждает, что наличие вируса гепатита В при хроническом процессе сопровождается недостаточностью клеток иммунной системы.

Проведенная терапия ламивудином изменила частоту регистрации клеточного иммунодефицита. Это можно объяснить тем, что в период лечения снижалась вирусная нагрузка, а, следовательно, уменьшалось воздействие вируса на Т-клеточное звено иммунной системы.

После проведенной ПВТ в группе больных с рецидивом заболевания нарушение работы иммунокомпетентных клеток регистрировалось у 82,7%. У пациентов со СО на ПВТ была зарегистрирована дисфункция лишь в 15% случаев (p<0,001).

При анализе клеточных иммунологических нарушений у больных в двух группах была выявлена различная частота встречаемости снижения уровня лимфоцитов, несущих фенотип $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$ до и после лечения.

У пациентов с рецидивом HBeAg- ХГВ до назначения ПВТ снижение уровня $CD3^+$ лимфоцитов выявлено в 76,4% от общего числа обследуемых. Низкие показатели $CD4^+$ отмечены в 78,2% случаев. Значения $CD8^+$ и $CD16^+$ лимфоцитов также были низкие у 82,7% и 75,5% больных от общего числа группы.

После терапии ламивудином у больных данной группы были получены следующие результаты: $CD3^+$ снижены у 64,5% от общего количества больных в группе, $CD4^+$ у 66,4%, $CD8^+$ у 74,5%, $CD16^+$ у 62,7%. Таким образом, у больных с рецидивом HBeAg- ХГВ изменения по частоте встречаемости иммунодефицита различных популяций лимфоцитов до и после терапии ламивудином достоверно не отличались.

Совершенно различные данные по показателям клеточного звена были зарегистрированы после проведенной ПВТ в группе пациентов HBeAg- ХГВ СО. До начала терапии основные показатели клеточного звена иммунной системы были изменены и достоверно не отличались от таковых в группе больных с рецидивом HBeAg- ХГВ. После лечения установлены статистически значимые изменения состояния клеточного звена у данной категории больных. Снижение уровня $CD3^+$ лимфоцитов до лечения у больных со СО регистрировалось у 71,7%, после лечения - у 8,3% от общего числа пациентов в группе. Снижение $CD4^+$ до начала ПВТ выявлено у 76,7%, после лечения - у 10%, $CD8^+$ и $CD16^+$ лимфоциты были снижены у 81,7% и 73,3% обследуемых, после терапии - у

11,7% и 6,7% соответственно.

В результате установлены нарушения клеточного звена иммунитета у пациентов с рецидивом HBeAg- ХГВ как до начала терапии, так и после ее окончания. Исследование показало, что у больных HBeAg- ХГВ СО изменения клеточного звена иммунной системы после завершения курса ПВТ были выражены минимально. Исходя из полученных результатов, можно сделать заключение, что степень выраженности иммунной дисфункции влияет на формирование рецидива у больных HBeAg- ХГВ.

Анализ показателей, характеризующих состояние клеточного звена иммунной системы и клинико-анамнестических данных у лиц различных клинических групп, продемонстрировал, что выявленные нами особенности экспрессии мембранных антигенов $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$ не зависели от длительности заболевания.

Установленное в результате исследования наличие выраженных различий иммунологических и биохимических показателей крови у пациентов с рецидивом HBeAg- ХГВ и со СО дало возможность создания способа прогнозирования развития рецидива HBeAg- ХГВ.

Оптимальным инструментом для реализации данной задачи являлся дискриминантный анализ. Классифицирующим параметром было наличие или отсутствие рецидива у пациента с HBeAg- ХГВ, а диагностическими признаками – иммунологические и биохимические показатели крови.

Проведенный дискриминантный анализ доказал принципиальную возможность прогнозирования развития рецидива у больных HBeAg- ХГВ по результатам иммунологических и биохимических показателей: количество лейкоцитов, относительное количество лимфоцитов, относительное количество $CD3^+$ лимфоцитов, абсолютное количество $CD4^+$ лимфоцитов, относительное количество $CD8^+$ лимфоцитов, абсолютное и относительное количество $CD8^+$ лимфоцитов, содержание общего билирубина.

Итоговая дискриминантная модель имела следующий вид:

$$DF = 0{,}7180x_1 + 0{,}0915x_2 + 0{,}3596x_3 + \\ + 10{,}7331x_4 + 0{,}1922x_5 + 7{,}3993x_6 - 0{,}1352x_7,$$

где DF – значение дискриминантной функции; x_1 - количество лейкоцитов, клеток $\times 10^9$ /л; x_2 - относительное количество лимфоцитов, %; x_3 - относительное количество $CD3^+$ лимфоцитов, %; x_4 - абсолютное количество $CD4^+$ лимфоцитов, клеток $\times 10^9$ /л; x_5 - относительное количество $CD8^+$ лимфоцитов, %; x_6 - абсолютное количество $CD8^+$ лимфоцитов, клеток $\times 10^9$ /л; x_7 - содержание общего билирубина, мкмоль/л.

Созданная дискриминантная модель характеризовалась повышением статистической значимости в целом ($F = 52{,}080$; $p < 0{,}00001$) и значимости каждого из входящих в его состав коэффициентов. Распределения значений дискриминирующей функции хорошо аппроксимировались семейством нормальных распределений с параметрами: $\mu = 35{,}209$; $\sigma = 2{,}878$ – для пациентов с рецидивом ХГВ и $\mu = 44{,}946$; $\sigma = 3{,}525$ для пациентов со СО. С учетом приведенных данных была построена номограмма определения вероятностей различных исходов ПВТ у больных HBeAg- ХГВ.

Обеспечиваемые разработанным способом диагностические выводы соответствуют общепринятым стандартам точности диагностических и скрининговых методов, поскольку являются показателями прогностической ценности положительного и отрицательного результатов диагностики.

Таким образом, предложенный способ позволяет определять вероятности рецидива и СО у пациентов HBeAg- ХГВ до начала стандартной ПВТ.

У всех пациентов в сыворотке крови выявлялся HBsAg. При проведении сравнительной характеристики клинического течения рецидива у основной группы пациентов HBeAg- ХГВ в зависимости от уровня HBsAg в сыворотке крови (низкий - < 100 нг/мл или высокий - > 100 ...< 200 нг/мл) выраженных различий по частоте основных клинических синдромов (диспепсический, астеновегетативный, гепатомегалия, спленомегалия) отмечено не было. При анализе биохимических показателей крови в зависимости от уровня HBsAg было достоверно установлено выраженное изменение показателей цитолитического, мезенхимально-воспалительного и холестатического синдромов у больных с высоким содержанием HBsAg ($p<0,05$).

У пациентов с высоким уровнем HBsAg была отмечена наибольшая концентрация вируса в сыворотке крови (ДНК HBV 438752,67±105350,99 копий/мл, $p<0,05$). При изучении взаимозависимости уровня HBsAg и концентрации вирусной ДНК крови мы провели их корреляционный анализ. При оценке корреляционных параметров установлена высокая положительная связь между уровнями HBsAg и ДНК HBV ($r=+0,72$) и такая же значительная связь с АЛАТ ($r=+0,64$). Данные корреляционного анализа показали тесные патогенетические взаимосвязи уровня HBsAg с выраженностью вирусной нагрузки и активностью АЛАТ.

При исследовании клеточного иммунитета достоверно было зафиксировано выраженное снижение относительного и абсолютного количества $CD4^+$ и $CD16^+$ клеток у пациентов с высоким содержанием HBsAg (31,44±1,43%, 0,66±0,012x10^9/л и 11,00±0,21%, 0,20±0,03x10^9/л) в сравнении с аналогичными показателями больных с низким уровнем HBsAg (38,44±0,65%, 0,92±0,05x10^9/л и 14,01±0,03%, 0,28±0,002x10^9/л соответственно, $p<0,05$). Учитывая полученные данные, можно предположить, что динамика уровня HBsAg на фоне ПВТ может служить критерием эффективности лечения ХГВ.

При изучении особенностей морфологического изменения печени было установлено, что случаи фиброза печени в 0-I стадии зарегистрированы в 87% при длительности предполагаемого инфицирования не более 5 лет. Доля случаев со II стадией фиброза составила 58,5% в группе пациентов с большой давностью инфицирования (более 5 лет), однако в 6,7% случаях, где установлена III стадия фиброза, давность инфицирования HBV была в пределах 1-5 лет.

При анализе взаимосвязи между синдромом цитолиза и степенью активности воспаления в печени у больных с рецидивом HBeAg- ХГВ выявлена слабая корреляционная связь между уровнем активности АЛАТ и некрозами гепатоцитов при рецидиве HBeAg- ХГВ (перипортальные некрозы $r=0,50$, $p=0,001$; интралобулярные некрозы $r=0,54$, $p=0,001$), что свидетельствует о меньшем значении активности АЛАТ при суждении о морфологической активности ге-

патита.

Сравнительный анализ двух групп пациентов с нормальной и повышенной активностью АЛАТ выявил достоверные различия по основным морфологическим параметрам, характеризующим активность воспаления в печени, в том числе и по ИГА Кноделя и всем его составляющим. При этом в группе пациентов с рецидивом HBeAg- ХГВ с нормальным уровнем АЛАТ в сыворотке крови были выявлены различные варианты активности гепатита - от минимальной до выраженной.

У пациентов с нормальными показателями АЛАТ, без клинических проявлений болезни, установлена минимальная активность процесса у 83,3%, а в остальных случаях (16,7%) - умеренная активность. У больных с нормальным уровнем АЛАТ и наличием клинических симптомов отмечена минимальная степень активности у 25%, слабовыраженная - у 50%, умеренная - у 16,7%, выраженная - у 8,3% обследуемых.

Морфологическая составляющая ИГА у пациентов с нормальным уровнем АЛАТ сыворотки крови представлена в основном не некротическим компонентом, а клеточной инфильтрацией, активацией купферовских клеток, пролиферацией эпителия желчных канальцев.

Повышенная активность АЛАТ определялась внутридольковым компонентом воспаления, что подтверждалось достоверной взаимосвязью с выраженностью внутридольковых некрозов ($r=0,54$, $p<0,001$) и воспалительной инфильтрации долек ($r=0,39$, $p<0,05$). Несколько в меньшей степени цитолитический синдром зависел от портального компонента воспаления за счет перипортальных некрозов ($r=0,50$; $p<0,001$) и воспалительной инфильтрации в портальных трактах ($r=0,28$, $p<0,05$).

У больных с рецидивом HBeAg- ХГВ без клинических проявлений и повышенным содержанием АЛАТ минимальная активность зарегистрирована у 30,8%, слабовыраженная - у 46,1%, умеренная у - 15,4%, выраженная - у 7,7%. В группе больных с выраженными клиническими проявлениями и повышенным содержанием АЛАТ степень активности патологического процесса в печени в 82,4% случаев характеризовалась как умеренная и выраженная.

С учетом связи изменений в клеточном звене иммунной системы с развитием рецидива была проведена оценка клинической и иммунологической эффективности применения ронколейкина у 53 пациентов с рецидивом HBeAg-ХГВ.

Больные с рецидивом HBeAg- ХГВ одновременно со стандартной ПВТ - ламивудином - получали отечественный препарат ронколейкин по разработанной нами методике. В качестве контрольной группы выступали больные с рецидивом заболевания, повторно получавшие лечение только ламивудином.

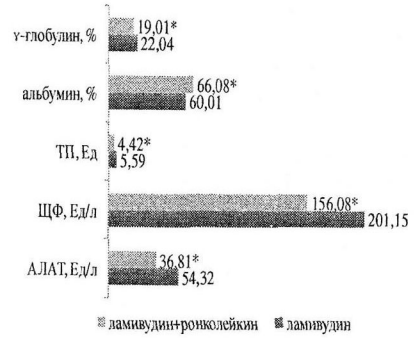
Результаты исследования оценивались по изменению клинических симптомов заболевания, динамике биохимических, иммунологических показателей и вирусологическому ответу (ВО).

При анализе результатов комплексной терапии мы установили, что все пациенты удовлетворительно переносили терапию. Нежелательных реакций у больных, включенных в исследование, не было.

В группе лиц, получавших препарат ронколейкин, длительность астеновегетативного синдрома сократилась на 15 суток и составила 25,7±1,1 (p<0,05). Средние показатели продолжительности астеновегетативного синдрома у больных ХГВ, получавших обычную ПВТ, составили 40,3±2,1 суток. Длительность проявлений диспепсического синдрома уменьшилась до 35,8±1,2 суток против 48,8±1,3 в контрольной группе (p<0,05). Продолжительность болей в эпигастральной области и/или в правом подреберье была достоверно меньше в группе больных, получавших ронколейкин (31,6+±1,9 суток и 44,2±2,1 соответственно, p<0,05), а также быстрее происходила нормализация размеров печени у больных на фоне комплексной терапии (27,8±1,8 суток, p<0,05).

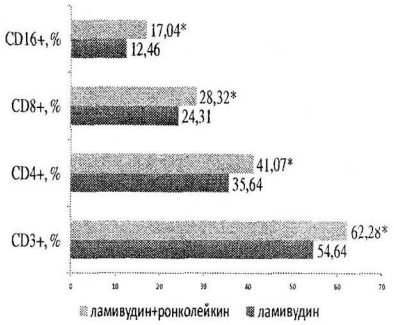
Указанные позитивные сдвиги в клинической картине у больных с рецидивом HBeAg- ХГВ под действием комбинированной терапии в качестве своей структурной основы имели изменения биохимических, клеточных механизмов иммунного ответа, направленных на элиминацию вируса из организма.

У больных, получавших ламивудин в комбинации с ронколейкином, основные биохимические показатели были достоверно приближены к норме (p<0,05 по отношению к группе сравнения) к завершению терапии (рис.1). Тенденция к улучшению метаболических процессов в печени была зарегистрирована уже через месяц сочетанной терапии и сохранялась на всех контрольных точках исследования - 3, 12 мес.



Примечание: * - достоверность отличий между показателями 1-й и 2-й группы, p<0,05

Рис. 1. Динамика основных показателей метаболизма печени у больных с рецидивом HBeAg- ХГВ в разных группах лечения.



Примечание: * - достоверность отличий между показателями 1-й и 2-й группы, p<0,05

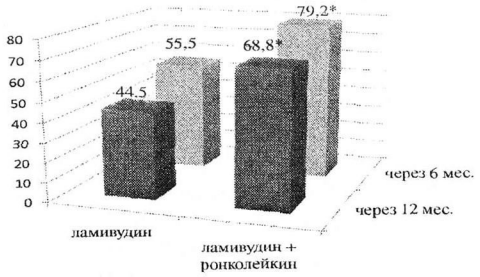
Рис. 2. Динамика основных показателей клеточного звена иммунитета у больных с рецидивом HBeAg- ХГВ в разных группах лечения (%).

Анализируя динамику иммунологических показателей под действием комплексной терапии, была выявлена нормализация показателей клеточного звена иммунной системы. Так, динамика клеточных показателей иммунограммы до, на фоне и после проведенной терапии показала модулирующий механизм действия препарата, который не только оказывал стимулирующий эффект, увели-

чивая уровни популяций лимфоцитов, но и нормализовывал соотношения иммунокомпетентных клеток (рис. 2). Учитывая выраженный иммуномодулирующий эффект лечения, можно сделать вывод о целесообразности проведения иммуноопосредованной терапии ронколейкином как одного из неотъемлемых звеньев патогенетического воздействия при рецидиве HBeAg- ХГВ в комплексной терапии с ламивудином.

Эффективность ПВТ оценивалась также в двух группах, как на фоне терапии, так и после её прекращения. При комбинированной терапии (ламивудин + ронколейкин) у больных с рецидивом HBeAg-негативного ХГВ первичный ВО был получен у 88,7% больных, непосредственный ВО - у 90,6% пациентов, что указывает на высокий фармакотерапевтический эффект.

Терапия ронколейкином имеет пролонгированный терапевтический эффект. В течение года наблюдается положительная динамика по двум важнейшим критериям эффективности терапии: нормализация биохимических показателей и негативация ПЦР. Через 6 месяцев после окончания лечения вирусологический и биохимический ответы наблюдаются у 79,2% пациентов, а через год - у 68,8% (рис. 3).



Примечание: * - достоверность отличий между показателями 1-й и 2-й группы, p<0,05

Рис. 3. Эффективность терапии (вирусологический ответ) у больных с рецидивом HBeAg-ХГВ при разных схемах лечения. По оси абсцисс – схемы лечения, по оси ординат – эффективность (%).

Считаем необходимым подчеркнуть, что нормализация показателей клеточного звена иммунитета является одной из приоритетных задач лечения рецидива HBeAg- ХГВ. В результате, предложенная модель прогнозирования рецидива позволяет оценить эффективность ПВТ и своевременно назначить комплексную (противовирусную + иммуноопосредованную) терапию, улучшить результат лечения рецидива HBeAg- ХГВ.

ВЫВОДЫ

1. Рецидив HBeAg- ХГВ характеризуется наличием следующих клинических синдромов: астеновегетативного у 98%, диспепсического у 90,8%, правого

подреберья у 97,3%, гепатомегалии у 81% больных. Рецидив заболевания в 62,7% случаев отмечается среди больных, у которых на старте ПВТ регистрируются выраженные цитолитический и мезенхимально-воспалительный синдромы.

2. Рецидив HBeAg- ХГВ сопровождается у 82,7% пациентов развитием дисбаланса клеточного звена иммунитета с недостаточностью абсолютного и относительного числа субпопуляционного состава лимфоцитов ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$) как до начала ПВТ, так и после ее завершения.

3. При рецидиве HBeAg- ХГВ у пациентов с высоким уровнем HBsAg (> 100 нг/мл) зарегистрировано достоверно выраженное повышение биохимических (билирубин, АЛАТ, АСАТ, тимоловая проба, γ-глобулин) и снижение иммунологических (относительное и абсолютное количество $CD4^+$ и $CD16^+$ - лимфоцитов) показателей, а также более высокий уровень ДНК HBV в сыворотке крови.

4. У больных HBeAg- ХГВ определены наиболее информативные биохимические (билирубин) и иммунологические (абсолютное количество лейкоцитов, относительное количество лимфоцитов, относительное количество $CD3^+$, абсолютное количество $CD4^+$, относительное и абсолютное количество $CD8^+$ - лимфоцитов) показатели крови, позволяющие прогнозировать рецидив заболевания с помощью разработанной дискриминантной модели.

5. У пациентов с нормальными показателями АЛАТ минимальная активность процесса выявлена у 44,4%, слабовыраженная – у 33,3%, умеренная - у 16,7%, выраженная - у 5,6%. У больных с повышенным содержанием АЛАТ минимальная активность отмечена у 8,5%, слабовыраженная - у 25,5%, умеренная - у 40,4%, выраженная - у 25,5%. Установлено, что уровень АЛАТ является не самым информативным критерием достоверной оценки морфологической активности в ткани печени у больных с рецидивом HBeAg- ХГВ. Отсутствие фиброза зарегистрировано у 10,8%, слабовыраженный фиброз - у 43%, умеренный - у 40%, выраженный - у 6,2% обследуемых.

6. Включение отечественного лекарственного препарата ронколейкин в комбинированную терапию больных HBeAg- ХГВ с рецидивом заболевания способствует более быстрому купированию основных клинических синдромов заболевания, нормализации биохимических показателей, оказывает корригирующее воздействие на клеточное звено иммунитета, повышает эффективность лечения (достижение стойкого ответа) на 24,3%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Больным хроническим HBeAg-негативным гепатитом В целесообразно включить в диагностический алгоритм определение показателей клеточного звена иммунитета (абсолютное и относительное содержание $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$ лимфоцитов) для определения необходимости назначения рекомбинантного интерлейкина-2 человека - ронколейкина.

2. Для оценки контроля эффективности противовирусной терапии рецидива

у пациентов хроническим HBeAg-негативным гепатитом В рекомендуется определение уровня HBsAg в динамике.

3. Для прогнозирования рецидива хронического HBeAg-негативного гепатита В наибольшее значение имеет определение следующих информативных биохимических (содержание общего билирубина, мкмоль/л - x_7) и иммунологических (количество лейкоцитов, клеток $\times 10^9$ /л - x_1; относительное количество лимфоцитов, % - x_2; относительное количество $CD3^+$ лимфоцитов, % - x_3; абсолютное количество $CD4^+$ лимфоцитов, клеток $\times 10^9$ /л - x_4; относительное количество $CD8^+$ лимфоцитов, % - x_5; абсолютное количество $CD8^+$ лимфоцитов, клеток $\times 10^9$/л - x_6) показателей на основании разработанной дискриминантной модели с помощью следующей формулы:

$$DF = 0{,}7180x_1 + 0{,}0915x_2 + 0{,}3596x_3 + \\ + 10{,}7331x_4 + 0{,}1922x_5 + 7{,}3993x_6 - 0{,}1352x_7,$$

далее с помощью номограммы определяется вероятность различных исходов ПВТ хронического HBeAg-негативного гепатита В.

4. В комплексную терапию больных с рецидивом хронического HBeAg-негативного гепатита В рекомендовано включить внутривенное капельное введение ронколейкина в дозе 500 000 МЕ со скоростью 1-2 мл/мин, в течение 4-6 часов 2 раза в неделю – 1 месяц, затем указанный препарат вводить подкожно по 500 000 МЕ 2 раза в неделю в течение 2-х месяцев. Далее препарат вводить подкожно на 12-м месяце лечения по 500 000 МЕ 2 раза в неделю в течение 1 месяца.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Мельникова Е.А. Результаты исследования клеточного звена иммунитета у больных хроническими вирусными гепатитами «В» и «С» [Текст] / Е.А. Мельникова, Л.Л. Попова, Н.Г. Юрченко и др. // VI съезд аллергологов и иммунологов СНГ Рос. национальный конгр. аллергологов и иммунологов. – М., 2006. – Т. 7, № 3. - С. 400.

2. Мельникова Е.А. Эффективность применения ронколейкина в лечении больных хроническим вирусным гепатитом «В» [Текст] / Е.А. Мельникова, Л.Л. Попова, Н.Г. Юрченко // VI съезд аллергологов и иммунологов СНГ Российский национальный конгресс аллергологов и иммунологов. - М., 2006. – Т. 7, № 3. - С. 401.

3. Мельникова Е.А. Показатели иммунного статуса у больных хроническим вирусным гепатитом «В» при рецидиве заболевания [Текст] / Е.А. Мельникова, Л.Л. Попова // Сб. науч. работ «Естествознание и гуманизм». - Томск, 2006. Т. 3, № 4. - С. 87-88.

4. Мельникова Е.А. Заболеваемость парентеральными вирусными гепатитами среди медицинских работников [Текст] / Е.А. Мельникова, Л.Л. Попова, Д.Ю. Константинов и др. // Мат. VII Рос. научн-практ. конф. с междунар. участием «Вирусные гепатиты – эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика». - М., 2007. - С. 116-117.

5. Мельникова Е.А. Результаты исследования клеточного звена иммунитета у больных хроническим вирусным гепатитом В на разных этапах лечения [Текст] / Е.А. Мельникова, Л.Л. Попова, О.О. Шульженко и др. // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатологии, колопроктологии. – М., 2008. - Т. 18, № 1. - С. 18.

6. Мельникова Е.А. Результаты лечения хронического вирусного гепатита В [Текст] / Е.А. Мельникова, Н.Г. Юрченко, И.В. Роганова и др. // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатологии, колопроктологии. – М., 2008. - Т. 18, № 1. - С. 33.

7. Мельникова Е.А. Результаты лечения хронического вирусного гепатита В с использованием генноинженерной вакцины энджерикс В [Текст] / Е.А. Мельникова, О.О. Шульженко, Л.Л. Попова и др. // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатологии, колопроктологии. – М., 2008. - Т. 18, № 1. - С. 44.

8. Мельникова Е.А. Клеточные факторы иммунитета у больных хроническим гепатитом В, страдающих наркотической зависимостью [Текст] / Е.А. Мельникова, Л.Л. Попова, А.А. Суздальцев // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатологии, колопроктологии. – М., 2008. - Т. 18 № 5. - С. 94.

9. Мельникова Е.А. Опыт применения препарата Бараклюд у больных хроническим гепатитом В [Текст] / Е.А. Мельникова, А.А. Суздальцев, Н.Г. Юрченко и др. // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатологии, колопроктологии. – М., 2009. - Т. 19, № 1. - С. 48.

10. Мельникова Е.А. Различные подходы к лечению хронической HBV-инфекции [Текст] / Е.А. Мельникова, А.А. Н.Г. Юрченко, Д.Ю. Константинов и др. // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатологии, колопроктологии. – М., 2009. - Т. 19, № 1. - С. 54.

11. Мельникова Е.А. Опыт лечения больных хроническим гепатитом В при наличии противопоказаний к стандартной терапии α-интерфероном [Текст] / Е.А. Мельникова, Л.Л. Попова, А.А. Суздальцев // Эпидемиология и инфекционные болезни – М., 2009. - № 1. – С. 56-59.

12. **Мельникова Е.А. Клинико-эпидемиологическая характеристика и состояние клеточного иммунитета у больных хроническим гепатитом В [Текст] / Е.А. Мельникова // Аспирантский вестник Поволжья. – Самара, 2009. - № 7-8. - С. 37-41.**

13. **Мельникова Е.А. Использование ронколейкина в комплексной терапии больных с рецидивом HBeAg- негативного хронического гепатита В / [Текст] / Е.А. Мельникова // Аспирантский вестник Поволжья. – Самара, 2010. - № 3-4. – С. 57-61.**

14. Мельникова Е.А. Характеристика морфологических изменений печени при HBeAg-негативном хроническом гепатите В у больных с рецидивом заболевания [Текст] / Е.А. Мельникова, Д.Ю. Константинов, Л.Л. Попова // Мат. II Ежегодного Всерос. конгр. по инфекц. болезням. – М., 2010. – С. 198.

15. Мельникова Е.А. Характеристика отдельных показателей клеточного звена иммунитета у больных хроническим гепатитом В с рецидивом заболевания в зависимости от уровня аминотрансфераз и длительности инфицирования [Текст] / Е.А. Мельникова, Д.Ю. Константинов, Л.Л. Попова // Мат. II Ежегодного Всерос. конгр. по инфекц. болезням. – М., 2010. – С. 199.

16. **Константинова Е.А. Клинико-лабораторная характеристика течения рецидива HBeAg- негативного варианта хронического гепатита В у пациентов с высоким и низким содержанием HBsAg [Текст] / Е.А. Константинова // Аспирантский вестник Поволжья. – Самара, 2010. - № 7-8. – С. 52-55.**

17. Мельникова Е.А. Показатели клеточного звена иммунитета в зависимости от уровня аланинаминотрансферазы у больных с рецидивом хронического гепатита В [Текст] / Е.А. Мельникова, Д.Ю. Константинов, Л.Л. Попова // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатологии, колопроктологии. – М., 2010. - Т. 20, № 1. - С. 41.

18. Мельникова Е.А. Характеристика иммунокомпетентных клеток в зависимости от виремии у больных HBeAg-негативным хроническим гепатитом В на фоне вирусологического рецидива [Текст] / Е.А. Мельникова, А.А. Суздальцев, Д.Ю. Константинов и др. // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатологии, колопроктологии. – М., 2010. - Т. 20, № 1. - С. 41.

19. Мельникова Е.А. Сравнительная характеристика функциональных нарушений желчного пузыря у больных хроническим гепатитом В и С по данным ультразвукового исследования [Текст] / Е.А. Мельникова, Д.Ю. Константинов, Л.Л. Попова // Медицинская визуализация – М., 2010. – С. 220-221.

20. Константинова Е.А. Отдаленные результаты комплексного лечения рецидива хронического HBeAg-негативного варианта гепатита В [Текст] / Е.А. Константинова, А.А. Суздальцев, Д.Ю. Константинов и др. // Инфекционные болезни – М., 2011. – Т. 9. – С. 180.

Подписано в печать 19.12.11 Формат 60×84/16
Объем 1 п.л. Тираж 100 экз. Заказ № 843

Типография ВМА,
194044, СПб., ул. Академика Лебедева, 6.