

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «КАЗАНСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Манапова Эльвира Равиловна

КЛИНИКО-ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВГС-МОНО И
СОЧЕТАННОЙ ВГС/ВИЧ ИНФЕКЦИЙ, ИХ ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ МОНИТОРИНГА
ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С

14.01.09 – инфекционные болезни

Диссертация на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
доктор медицинских наук, профессор
Фазылов В.Х.

Казань – 2015

Введение	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
1.1. Иммунный ответ при ВИЧ и ВГС моноинфекциях с участием цитокинов	16
1.1.1. Иммунный ответ и роль цитокинов при ВИЧ моноинфекции	16
1.1.2. Иммунный ответ и роль цитокинов при ВГС моноинфекции	23
1.2. Противовирусная терапия ХГС на современном этапе у ВГС-моноинфицированных	29
1.3. Противовирусная терапия ХГС с учетом особенностей инфекционного процесса у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией	32
1.4. Роль генотипов интерлейкина-28В в противовирусном ответе при лечении ХГС у пациентов с моно-ВГС и ВГС/ВИЧ-сочетанной инфекцией	38
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	43
2.1. Общая клинико-лабораторная и морфологическая характеристика пациентов	43
2.2. Методы исследования	58
ГЛАВА 3. КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ И ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС ПАЦИЕНТОВ С СОЧЕТАННОЙ ВГС/ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ И ВИЧ-МОНОИНФЕКЦИЕЙ С ДИНАМИКОЙ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ ПРИ ЕСТЕСТВЕННОМ ТЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА	64
3.1. Сравнительная характеристика показателей иммунного (клеточного) статуса пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ и ВИЧ-моноинфекцией при естественном течении инфекционного процесса в динамике диспансерного наблюдения	64

3.2. Цитокиновый статус пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ и ВИЧ-инфекциями в зависимости от показателей активности инфекционного процесса ВИЧ-инфекции (уровня CD4+лимфоцитов и вирусной нагрузки)	70
3.3. Динамика клинических проявлений у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией и ВИЧ-моноинфекцией при естественном течении инфекционного процесса (с учетом АлАТ, вирусной нагрузки ВИЧ и числа CD4+лимфоцитов)	73
3.4. Особенности клинико-иммунологического и цитокинового профиля на ранних сроках ВИЧ-инфекции при различных путях инфицирования	84
3.5. Корреляционный анализ взаимосвязи цитокинов и показателей иммунного ответа при сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекции, ВИЧ-моноинфекции с учетом активности инфекционного процесса	90
ГЛАВА 4. МЕТОДЫ ПВТ ХГС В СРАВНИТЕЛЬНОМ АСПЕКТЕ У ПАЦИЕНТОВ С ВГС-МОНОИНФЕКЦИЕЙ	95
4.1. ПВТ ХГС у пациентов с ВГС-моноинфекцией; сравнительная оценка влияния стандартных и пегилированных интерферонов на клинические проявления, иммуно-вирусологические и гематологические показатели	95
4.1.1. Нежелательные явления при проведении ПВТ у пациентов с ВГС-моноинфекцией	103
4.1.2. Сравнительная оценка тромбоцитопении у пациентов с ВГС-моноинфекцией при применении стандартных и пегилированных интерферонов в комбинированной ПВТ ХГС	110
4.1.3. Коррекция нейтропении и функциональной активности нейтрофилов при проведении ПВТ ХГС с использованием различных форм интерферонов	123

4.2. Эффективность и безопасность терапии сопровождения ХГС с использованием цитокиновых препаратов интерлейкина-1 β или интерферона- γ в сочетании с альфа-интерфероном и рибавирином у пациентов ВГС-моноинфекцией при отсутствии ответа на предшествующую ПВТ (интерфероном и рибавирином)	128
4.2.1. Применение различных схем рекомбинантного интерлейкина-1 β в лечении ХГС у пациентов, неответивших на первичную противовирусную терапию	129
4.2.2. Оценка различных схем лечения ХГС у пациентов - "неответчиков" с включением интерлейкина-1 β или интерферона- γ в комбинированную терапию (стандартный интерферон-альфа +рибавирин)	151
ГЛАВА 5. КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ И ПРОТИВОВИРУСНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПВТ ХГС ПРИ СОЧЕТАННОЙ ВГС/ВИЧ ИНФЕКЦИИ В СРАВНИТЕЛЬНОМ АСПЕКТЕ С ВГС-МОНОИНФЕКЦИЕЙ	156
5.1. Влияние ПВТ на клиническое течение, лабораторные и морфологические характеристики пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией и ВГС-моноинфекцией	159
5.2. Динамика показателей цитокинового статуса во взаимосвязи с иммунологическими факторами у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией и ВГС-моноинфекцией на фоне ПВТ ХГС	169
5.2.1. Противовирусная эффективность с учетом прогностических критериев иммунного и цитокинового статусов при лечении ХГС у пациентов с ВГС моно- и сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекциями	180
5.2.2. Цитокиновый статус и показатели СОЭ при ПВТ ХГС у моноинфицированных ВГС и пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекциями	187

5.3. ПВТ ХГС у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией: сравнительная оценка влияния стандартных и пегилированных интерферонов на клинические проявления, иммуновирологические и гематологические показатели	197
5.3.1. Сравнительная характеристика раннего вирусологического ответа и вирусологического ответа на 12 неделе диспансерного наблюдения после комбинированной ПВТ ХГС, как предикторов СВО при ВГС-моно и сочетанной ВГС/ВИЧ инфекциях	212
ГЛАВА 6. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНОТИПОВ ИНТЕРЛЕЙКИНА-28В У ПАЦИЕНТОВ С МОНО-ВГС, ВИЧ и ВГС/ВИЧ-СОЧЕТАННОЙ ИНФЕКЦИЯХ С ОЦЕНКОЙ ПВТ ХГС	218
6.1. Анализ распределения ПЕН в аллелях rs8099917 и rs12979860 гена ИЛ-28В при моно-ВГС, ВИЧ и ВГС/ВИЧ-сочетанной инфекциях с учетом путей передачи, пола, генотипов и вирусной нагрузки (ВН)	218
6.2. Применение стандартных и пегилированных интерферонов в комбинированной противовирусной терапии ХГС при определении ПЕН в аллелях rs8099917 и rs12979860 гена интерлейкина-28В	236
6.2.1. Сравнительная эффективность стандартных и пегилированных интерферонов при лечении ХГС у моноинфицированных ВГС-инфекцией с учетом генотипов интерлейкина-28В	236
6.2.2. Определение вариантов ПЕН гена интерлейкина-28В у пациентов с сочетанной инфекцией ВГС/ВИЧ, получающих ПВТ ХГС	239
Заключение	241
Выводы	266
Практические рекомендации	269
Список сокращений	271
Список использованной литературы	273

Актуальность темы исследования. В мире более 185 миллионов человек, инфицированных вирусом гепатита С (ВГС) и до 500000 ежегодно умирает от связанных с гепатитом С болезней печени (Lozano R. et al., 2012; Mohd Hanafiah K. et al., 2013). Вследствие общих путей передачи, распространенность ВГС инфекции является высокой у пациентов с вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), встречается у 60–80% потребителей инъекционных наркотиков и у 16–25% пациентов с риском инфицирования половым путем (Антонова Т.В. и др., 2005; Лиюзов Д.А., 2010; Покровский В.И., 2010; Danta M. et al., 2007). В мире у 2,8 млн ВИЧ-инфицированных выявляются антитела к HCV (Easterbrook P., 2014); в Европе один из четырех ВИЧ-инфицированных пациентов имеет ВГС-инфекцию (Rockstroh J.K. et al., 2013), в России маркеры хронического гепатита С (ХГС) выявляют у 83-85% пациентов ВИЧ-инфекцией (Кравченко А.В. и соавт., 2011), из которых 75-95% имеют РНК ВГС. Даже при успешной терапии ВИЧ-инфекции и стойком подавлении репликации ВИЧ, риск печеночной декомпенсации по-прежнему выше при ВГС/ВИЧ сочетанной инфекции, чем у ВГС-моноинфицированных пациентов (Lo Re V 3rd. et al., 2014). Появление новых схем без интерферона и рибавирина, противовирусных препаратов прямого действия для лечения ХГ у ВГС-моноинфицированных и пациентов с ВГС/ВИЧ сочетанной инфекцией позволяет достичь стойкий вирусологический ответ (СВО) в более 95%, но необходимо учитывать стоимость этих препаратов, а большинство пациентов из стран с низким и средним уровнем дохода. По данным Chhatwal J. (2015) новые методы лечения ХГС будут стоить частным страховым компаниям и правительству США \$136 млрд в течение ближайших 5 лет, на \$65 млрд больше, чем стоимость терапии того же числа пациентов с более старыми препаратами, при этом в настоящее время только от 13% до 18% лиц с ХГС получают лечение. Появляются и новые данные о побочных эффектах например, кардиотоксичности софосбувира (Mandrola J., 2015), а также ингибиторы протеазы ВГС метаболизируются через

цитохром Р450, что будет усложнять их назначение с антиретровирусной терапии (АРВТ).

Степень разработанности темы. В настоящее время следует проводить персонализированную ПВТ ХГС с учетом иммуногенетических и патогенетических предикторов. Клиническое течение, тяжесть заболевания и прогноз во многом зависят от качества иммунного ответа на внедрившийся вирус (Рахманова А.Г., 2006; Avidan N.U. et al., 2009; Macias J. et al., 2009). В иммунопатогенезе ХГС важную роль играет нарушение баланса продукции цитокинов Th1/Th2 клетками (Ивашкин В.Т., 2002; Мезенцева М.В. и др., 2002; Попова Л.Л., 2009). Дисбаланс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в пользу последних может приводить к нарушению лизиса зараженных гепатоцитов и элиминации вирусных частиц с развитием хронического воспаления (Давтян Т.Л., 2002; Маммаев С.Н., 2001; Носик Н.Н., 2000). У большинства пациентов с ХГС наблюдается неспособность клеточного, гуморального и цитокинового ответа элиминировать вирус. Кроме количественных изменений Т-клеток, ВИЧ может индуцировать качественные дефекты в иммунных ответах через нарушение профиля секреции цитокинов, которые как эндогенные иммуномодуляторы, участвуют во всех этапах развития заболевания при естественном течении, нарушая функции NK-клеток (Iannello A. et al., 2008; Khakoo S.I. et al., 2004), а также играют важную роль в вирусном клиренсе, контроле инфекции и регенерации на фоне противовирусной терапии (Costantini S. et al., 2010). Вероятно, белки ВИЧ (tat, gp120) или сам ВИЧ напрямую меняет цитокиновую среду в печени через связывание или внедрение в гепатоциты, звездчатые клетки и резидентные иммунные клетки в печени (Tuyama A.C. et al., 2010). Возможность определения уровня нарушений цитокинового профиля и изучение генов, контролирующей активность цитокинов, позволит прогнозировать формирование СВО на ПВТ ХГС, корректировать назначением цитокинотерапии, а также индивидуально подобрать специфическую терапию для конкретного пациента. Генотипы интерлейкина-28В являются наиболее важным предиктором ответа при HCV-1 на комбинированную терапию пегилированным

интерфероном-альфа (Пег-ИФН-а) и рибавирином для ВГС-моноинфицированных и пациентов с ВГС/ВИЧ сочетанной инфекцией с достижением СВО $\geq 70\%$ при генотипе C/C rs12979860, что в 2-3 раза больше, чем при генотипах C/T, T/T 12979860 (Chen Y. et al., 2012; Rallón N.I. et al., 2010; Thompson A.J. et al., 2010).

Исходя из вышеизложенного, нами поставлены следующие цель и задачи исследования.

Цель исследования: на основе определения диагностических взаимосвязей иммуноциткинового и иммуногенетического статусов обосновать клинко-патогенетическую эффективность и прогностические критерии анти-ВГС терапии при монотечении и в сочетании с ВИЧ-инфекцией.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Провести сравнительный анализ уровней отдельных цитокинов в сыворотке крови пациентов ВИЧ в моно- и сочетанном варианте с ВГС при естественном течении инфекционного процесса в зависимости от вирусной нагрузки, функциональной активности клеточных факторов иммунитета и выраженности воспаления.
2. Определить особенности клинического течения и межклеточных взаимоотношений отдельных цитокинов в иммунном ответе на ранних сроках инфицирования ВИЧ (до 1 года) и различных путях инфицирования у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией при сравнительной характеристике с ВИЧ-моноинфекцией.
3. Провести сравнительный анализ у пациентов с моно-ВГС, ВИЧ и сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекциями взаимосвязи генотипов по ИЛ-28В с другими факторами и оценку значения в прогнозировании вирусологических ответов при ПВТ ХГС.
4. Изучить клинко-лабораторные показатели у пациентов ХГС (моно- и в сочетании с ВИЧ) при использовании ПВТ Ст-ИФН-а (индукционный метод) или Пег-ИФН-а в комбинации с рибавирином, включая оценку вирусологического ответа на 12 неделе лечения и 12 неделе наблюдения для прогнозирования эффективности анти-НСV терапии.

5. Выявить прогностическое значение ведущих цитокинов в формировании вирусологического ответа при ПВТ ХГС у пациентов с моно-ВГС и сочетанной ВГС/ВИЧ инфекциями во взаимосвязи их с активностью клеточных факторов иммунитета и степени их экспрессии с уровнем СОЭ, как интегрального дифференцировочного маркера воспаления.
6. Изучить влияние терапии сопровождения комбинированной ПВТ с включением рекомбинантного интерлейкина-1 β и интерферона- γ у пациентов ХГС (генотип 1b), не ответивших на предшествующее лечение с учетом генотипов по ИЛ-28В и оценкой эффективности, безопасности различных схем.
7. Оценить динамику развития цитопений (тромбоцитопении, нейтропении) как нежелательных явлений в комбинированной противовирусной терапии ХГС и корректирующую эффективность глюкозаминилмурамилдипептида.

Научная новизна

При естественном течении сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекции и ВИЧ-моноинфекции определена сравнительная характеристика основных иммунокомпетентных клеток с учетом экспрессии отдельных цитокинов; при сочетанной инфекции ВГС/ВИЧ с высокой вирусной нагрузкой ВИЧ установлена разнонаправленность Т-клеточных факторов, совпадающая со снижением уровня ИЛ-1 β и повышением – ИЛ-2, ИФН γ .

Впервые дана сравнительная характеристика клинико-иммунологических особенностей с ранних сроков заболевания (до 1 года) при различных путях инфицирования ВИЧ-инфекцией; при инъекционном - установлено более агрессивное естественное течение заболевания с развитием вторичных заболеваний в течение первых 2 лет, сопровождающееся подавлением Т-хелперного звена и повышением цитотоксических клеток иммунного ответа.

Впервые представлена в сравнительном аспекте взаимосвязь генотипов по ИЛ-28В при ВГС, ВИЧ-инфекциях и их сочетании с социально-эпидемиологическими факторами, активностью инфекционного процесса и определением их значения при различных схемах ПВТ ХГС.

Впервые доказана эффективность комбинированной ПВТ ХГС с использованием индукционного метода введения Ст-ИФН-альфа и рибавирина в сравнении с Пег-ИФН-альфа и рибавирином, сопоставимую у пациентов с ВИЧ-инфекцией без АРВТ; установлено прогностическое значение оценки вирусологических ответов на 12 нед. лечения и 12 нед. наблюдения в достижении СВО и отсутствия рецидивов у пациентов с ХГС.

Впервые разработаны различные схемы комбинированной ПВТ с использованием терапии сопровождения с включением рекомбинантного интерлейкина-1 β и интерферона- γ у пациентов ХГС (генотип 1b) с неблагоприятными генотипами по ИЛ-28В и не ответивших на предшествующее лечение.

При сравнительном анализе выявлено развитие нейтропении на ранних сроках ПВТ (первые 12 недель) с одинаковой частотой у пациентов, получавших индукционные дозы стандартных ИФН- α и Пег-ИФН- α в сочетании с рибавирином, за исключением крайне тяжелой степени, которая чаще диагностировалась в группе, получавших Пег-ИФН- α ; при этом назначение глюкозаминил-мурамилдипептида оказывает корректирующее влияние на нарушенные звенья фагоцитарных механизмов защиты, стимулирует лейкопоз, повышает резервные возможности функционально-метаболической активности гранулоцитов.

Определены предикторы иммуномодулирующей эффективности противовирусной терапии ХГС (Ст-ИФН-альфа или Пег-ИФН-альфа с рибавирином) при моно-ВГС и сочетанной инфекции ВГС/ВИЧ на основе цитокинового профиля, отражающие формирование СВО, а также показана взаимосвязь уровня экспрессии цитокинов и СОЭ и их значение для прогноза вирусологического ответа на ПВТ.

Теоретическая и практическая значимость работы

1. Представлено патогенетическое обоснование иммунологической дисфункции с участием ведущих цитокинов в межклеточном взаимодействии при естественном течении сочетанной инфекции ВГС/ВИЧ в сравнении с ВИЧ-моноинфекцией, особенно на ранних сроках инфицирования, а также мониторинга ПВТ ХГС в достижении СВО.

2. Дано клинико-лабораторное обоснование эффективности комбинированной ПВТ ХГС Ст-ИФН- α (индукционный метод) и Пег-ИФН- α в сочетании с рибавирином при моно-ВГС и сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекциях с учетом как общепринятых в достижении СВО прогностических критериев, так и установление прогностической оценки вирусологического ответа на 12 нед. лечения и 12 нед. наблюдения.
3. Для повышения показателя СВО у пациентов с ХГС (генотип 1b), не ответивших на предшествующее лечение, предложены схемы с использованием ИФН- α , рибавирина, рекомбинантного интерлейкина-1 β или интерферона- γ с учетом генотипов по ИЛ-28В.
4. Для прогнозирования достижения СВО при комбинированной ПВТ ХГС Ст-ИФН- α (индукционный метод) и Пег-ИФН- α в сочетании с рибавирином у пациентов с моно-ВГС и сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекциями определены ведущие генотипы по ИЛ-28В на этапе планирования анти-НСV терапии, имеющие взаимосвязи с вирусной нагрузкой и генотипами ВГС, активностью воспалительного процесса (АлАТ) и путями передачи ВИЧ и ВГС.
5. В рамках лечебно-диагностического мониторинга нежелательных явлений при проведении комбинированной ПВТ ХГС Ст-ИФН- α (индукционный метод) и Пег-ИФН- α в сочетании с рибавирином для коррекции нейтропении предложена схема применения глюкозаминилмурамилдипептида.

Основные положения, выносимые на защиту

1. При естественном течении сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекции в отличие от ВИЧ-моноинфицированных патогенез иммунного ответа представляется дисбалансом Т-клеточных и цитокиновых факторов, определяющих на ранних сроках (менее 1 года) инфицирования ВИЧ, особенно инъекционным путем, более агрессивное течение инфекционного процесса с учетом высокой вирусной нагрузки, преобладания в клинической картине гнойно-воспалительных и грибковых поражений, быструю манифестацию (в течение первых 2 лет) вторичных заболеваний.

2. ПВТ ХГС у пациентов ВГС моно– и сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией при сравнительной характеристике применения Ст-ИФН-альфа или Пег-ИФН-альфа в комбинации с рибавирином суммарно сопоставима по СВО, что достигается иммунокорригирующим действием препаратов в отношении субпопуляций Т-лимфоцитов (CD4+, CD8+, CD4+/CD8), НК-клеток с разнонаправленностью экспрессии ведущих цитокинов (повышение уровня ИФН-гамма и ИЛ-10, снижение ИЛ-1b) – что в совокупности способствует снижению уровня РНК ВИЧ и РНК ВГС, которым прогностически способствует корреляционная взаимосвязь экспрессии цитокинов и СОЭ как дифференцировочного маркера воспаления.

3. Генотипирование по ИЛ-28В пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией регистрирует более частые распределения генотипа CC rs12979860, а также сочетания генотипов CC rs12979860/TTrs8099917; генотипы CC (rs12979860) и TT rs8099917 чаще определяются у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией при HCV-3a с высокой вирусной нагрузкой РНК ВГС и выраженным воспалительным процессом (АлАТ>5N), что определяет достижение СВО при ПВТ ХГС.

4. Включение цитокиновых препаратов ИЛ-1b и ИФН-гамма в ПВТ (ИФН-альфа+рибавирин) ХГС (генотип 1b) как терапия сопровождения представляется перспективным (в том числе при сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекции) и патогенетически обоснованным, позволяющим дополнительно получить СВО у 44,4% пациентов с неблагоприятным генетическим фоном по ИЛ-28В и неответивших на предыдущее лечение.

5. Развитие гематологических нежелательных явлений (тромбоцитопения, лейко- и нейтропения) при ПВТ ХГС Ст-ИФН-альфа или Пег-ИФН-альфа в комбинации с рибавирином у пациентов ВГС-моно и сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекциями не требует включения дополнительной медикаментозной коррекции; при развитии среднетяжелой «ранней» (до 12 недели ПВТ) и для профилактики «поздней» (после 12 недели лечения) нейтропении назначение иммуностимулирующего препарата глюкозаминилмурамилдипептида у пациентов с ХГС стимулирует лейкопоз, повышает резервные возможности функционально-метаболической

активности гранулоцитов, что позволяет не снижать дозы интерферонов, повышая их эффективность.

Степень достоверности и апробация результатов.

Степень достоверности результатов проведенного исследования определяется достаточным объемом выполненных наблюдений с комплексным использованием современных разноплановых методов исследования, анализом репрезентативных выборок обследованных пациентов; применением статистических методов, адекватных поставленным задачам.

Материалы диссертации доложены на Всероссийской научной конференции молодых ученых «Актуальные вопросы инфекционной патологии» (Санкт-Петербург, 2007, 2011), Всероссийской научно-практической конференции «Молодые ученые в медицине» (Казань, 2009, 2010, 2011, 2012, 2014), представлены на Юбилейной научно-практической конференции, посвященной 85-летию кафедры инфекционных болезней КГМУ (Казань, 2010), 8-й Северо-Западной научной гастроэнтерологической сессии (Санкт-Петербург, 2011), Республиканском семинаре-совещании «Актуальные вопросы оказания медицинской помощи больным ВИЧ-инфекцией» (Казань, 2011), Всероссийской межвузовской научно-практической конференции молодых ученых и студентов, посвященной 80-летию медико-профилактического факультета (Казань, 2011), XVI, XIX Российском конгрессе «Гепатология сегодня» (Москва, 2011, 2014), 14-м Международном Славяно-Балтийском научном форуме «Санкт-Петербург-Гастро-2012» (Санкт-Петербург, 2012); II, III Международном конгрессе Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (Астана, 2012, Екатеринбург, 2014), II, III, IV Ежегодном Всероссийском Конгрессе по инфекционным болезням (Москва, 2010, 2011, 2012); XX Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2013); Российской научно-практической конференции «Инфекции и соматическая патология» (Казань, 2013), Международной научно-практической конференции по военной медицине (Санкт-Петербург, 2013), научно-практической конференции «Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции в Республике Татарстан: прошлое, настоящее и будущее» (Казань, 2014); 88-й Всероссийской научно-

практической конференции студентов и молодых ученых, посвященной 200-летию Казанского государственного медицинского университета (Казань, 2014); VI Российской научно-практической конференции «Здоровье человека в XXI веке» (Казань, 2014); совместном заседании кафедры инфекционных болезней и кафедры детских инфекций ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедры инфекционных болезней ГБОУ ДПО «Казанская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

По теме диссертации опубликованы 60 научных работ, в том числе – 19 статей в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ для публикации результатов диссертационных исследований. Основные положения проведенных исследований вошли в пособие для врачей под редакцией Ю.В.Лобзина, К.В.Жданова, А.С. Симбирцева - «Хронический гепатит С: комбинированная терапия при неэффективности первичного противовирусного лечения»; в главы монографии - «Хронические вирусные гепатиты В, С и D», под редакцией профессоров Еналеевой Д.Ш., Фазылова В.Х., Созинова А.С.

Внедрение результатов исследований.

Рекомендации по использованию особенностей иммунного ответа с участием отдельных цитокинов в мониторинговании ПВТ ХГС у пациентов с ВГС/ВИЧ-инфекцией внедрены в практику работы врачей «Республиканского центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями Министерства здравоохранения Республики Татарстан» (РЦПБ СПИД и ИЗ МЗ РТ), ГАУЗ «Республиканская клиническая инфекционная больница (РКИБ) им. проф. А.Ф. Агафонова» Министерства здравоохранения Республики Татарстан, в учебный процесс кафедры инфекционных болезней ГБОУ ВПО Казанского государственного медицинского университета (ГМУ) Минздрава России.

Личный вклад диссертанта в проведенное исследование. Автор участвовал в разработке дизайна исследования, сборе и анализе полученных клинико-лабораторных данных на всем протяжении самостоятельного лечебно-

диагностического процесса, с формированием электронной базы. Внедрил полученные результаты на клинических базах и в учебный процесс. Проведена математико-статистическая обработка и обобщение полученных результатов, с включением их в научные публикации, сформулированы основные положения диссертации и оформлены все главы диссертационной работы.

Объем и структура диссертации. Диссертация написана на русском языке, изложена на 306 страницах компьютерного набора и состоит из введения, обзора литературы, 6 глав собственных исследований, обсуждения результатов и заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы, включающего 102 отечественных и 238 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 90 рисунками, 89 таблицами и 5 клиническими примерами.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Иммунный ответ при ВИЧ и ВГС моноинфекциях с участием цитокинов

1.1.1. Иммунный ответ и роль цитокинов при ВИЧ моноинфекции

Заражение ВИЧ начинается с прикрепления вируса к одному из его рецепторов с последующим связыванием с корецепторами и молекулами адгезии. Слияние ВИЧ с мембраной клетки-мишени приводит к дезинтеграции вирусного ядра и выбросу РНК ВИЧ в цитоплазму, где она подвергается транскрибированию с помощью обратной транскриптазы в двухнитевую ДНК. Затем вновь образованная ДНК транспортируется в ядро и с помощью интегразы встраивается в геном клетки (Бобкова М.Р., 2006). Цитокины, образующиеся на начальных этапах, привлекают в очаг инфекции еще больше клеток иммунной системы (Gresso G. et al., 1999), тем самым способствуя их заражению и распространению вируса, а не его элиминации (Cocchi F. et al., 1995).

ВИЧ-1 проявляет тропность к CD4 Т-лимфоцитам посредством связывания гликопротеина вирусной оболочки gp120 с CD4-молекулой, расположенной на поверхностной мембране Т-хелперов и представляющей собой основной рецептор для входа вируса в клетку. ВИЧ, тропный к макрофагам, также использует для внедрения в клетку рецептор хемокинов CCR5, такой вирус называют вирусом R5. ВИЧ, тропный к Т-лимфоцитам и использующий рецептор CXCR4 называют вирусом X4 (Berger E.A. et al., 1999). Цитопатическое действие более выражено у вируса X4, чем у R5. ВИЧ поражает как Т-хелперы 1, так и 2 типа, но в Th1 вирус встраивается в геном рядом с регуляторными последовательностями гена ИЛ-2, подавляя продукцию ИЛ-2, являющегося Т-клеточным ростовым фактором. ИЛ-2 активирует покоящиеся Т-хелперы и также способствует повышению пермиссивности (Folks T.M. et al., 1987; Popik W., Pitha P.M., 1993; Poli G. et al., 1994; Prins J.M. et al., 1999). Дефицит ИЛ-2 нарастает с прогрессией заболевания. Снижение продукции ИЛ-2 ассоциируется со снижением числа CD4-лимфоцитов,

их хелперной активности, способности реагировать на повторное введение антигена, реакции в смешанной культуре лимфоцитов и пролиферации в ответ на фитогемагглютинин (Рахманова А.Г. и др., 2004). Показано, что ВИЧ может заражать не только клетки иммунной системы, но и неиммунные клетки, например, в ЦНС, толстой кишке, почках, предстательной железе, а также ВИЧ поражает даже покоящиеся CD4⁺ клетки и для этого достаточно сравнительно небольших количеств вируса (Agosto L.M. et al., 2007), что объясняет обнаружение вируса в незрелых CD4⁺ лимфоцитах (Siliciano J.D., 2000).

При инфицировании клеток последующая продукция цитокинов является результатом взаимодействия ВИЧ и CD4⁺ клеток, однако топография сайтов CD4-связывающего региона, которые индуцируют цитокины, остается невыясненной. Данные свидетельствуют, что связывание gp120 с CD4⁺ приводит к индукции синтеза ФНО, который, в свою очередь, способствует репликации вируса, находящегося в «дремлющем» состоянии в клетке. ВИЧ-1 напрямую индуцирует продукцию ФНО, а обработка ФНО инфицированных клеток усиливает процесс репликации в 10 и более раз (Кетлинский С.А. и др., 1992). Индукция под воздействием пептида 426-452, в момент его связывания с молекулой CD4, приводит к секреции не только ФНО, но также ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-2 (Кетлинский С.А. и др., 1996). Многие вирусы, включая ВИЧ-1, используют активацию синтеза и эффекты действия цитокинов хозяина для регуляции своей экспрессии и поддержания вируса в латентном состоянии в клетке до возникновения соответствующих условий микроокружения. Общая концепция цитокин-индуцированных изменений вирусной перmissивности состоит в том, что цитокины могут влиять на этот процесс в зависимости от цитокина, вовлекаемого вируса и типа клетки-хозяина (Butera S., 1993). Клетки, интегрирующие ВИЧ и содержащие «дремлющие» провирусы, похожи на существующий *in vivo* резерв клеток, которые не экспрессируют ВИЧ вплоть до того момента, пока не возникнут нужные комбинации внешних стимулов (Williams S.A., Greene W.C., 2007). Чрезмерная активация иммунной системы сопровождается синтезом провоспалительных цитокинов, что приводит к усиленной репродукции ВИЧ и

гибели CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов путем апоптоза и других механизмов, включая, предположительно, усиленное старение клеток (Effros R.B., 2003). Группа цитокинов, ответственная за стимуляцию экспрессии генома и синтеза белков ВИЧ, не так мала. Цитокины, вовлеченные в гомеостатическую регуляцию иммунного ответа, такие как ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО, усиливают экспрессию ВИЧ. Провоспалительные цитокины ИЛ-1 α и ИЛ-1 β индуцируют экспрессию ВИЧ в латентно инфицированной промиелоцитарной линии человека U1 (Biswas P. et al., 1994; Poli G., Fauci A., 1993). Считается, что одновременная продукция Т-лимфоцитами ИЛ-2 и интерферона- γ усиливает иммунный ответ на ВИЧ (Almeida J.R. et al., 2007; Betts M.R. et al., 2006).

Выработка цитокинов CD4⁺лимфоцитами во многом зависит от их взаимодействия с дендритными клетками. Дендритные клетки важны для работы как врожденной, так и адаптивной иммунной системы, они презентруют антигены Т- и В-лимфоцитам, а также вырабатывают цитокины, усиливающие иммунный ответ (Banchereau J., 1998). Плазмацитоподобные дендритные клетки могут направлять иммунный ответ по типу Т-хелперов типа 1 или типа 2 (Liu Y.J., 2005). Они находятся в CD4-зоне лимфоидной ткани и в небольшом количестве в крови (2–8/мкл). После встречи с вирусом или другим патогенным микроорганизмом эти клетки являются основным источником интерферона- γ (Siegal F.P. et al., 1998), а их снижение коррелирует с развитием СПИДа (Schmidt B. et al., 2004). С другой стороны, показано, что нарастание числа плазмацитоподобных дендритных клеток и повышение синтеза интерферона на ранних стадиях ВИЧ-инфекции могут вести к развитию хронической активации иммунной системы (Malleret B. et al., 2008).

Причины исчезновения CD4⁺клеток из периферической крови различны, среди них можно выделить апоптоз, который может быть инициирован у CD4⁺ и CD8⁺лимфоцитов при активации антигеном (Покровский В.В. и др., 2000; Чеснокова Н.П. и др., 2006). Гибель лимфоцитов CD4⁺ путем апоптоза происходит либо непосредственно в результате заражения клетки вирусом, либо вследствие активации иммунной системы. Инфицирование ВИЧ сопровождается значительным повышением поверхностной экспрессии рецептора гибели Fas на

поверхности CD4-клеток (Körner C. et al., 2011). Однако недавно стало известно, что при ВИЧ-инфицировании апоптоз играет незначительную роль в гибели CD4-клеток. Изучавшие этот вопрос авторы (Cooper A. et al., 2013) пришли к выводу, что CD4-лимфоциты подвергаются прямой гибели от вируса путем некроза, в результате нарушения клеточного метаболизма и целостности клеточной мембраны, вызванное ВИЧ, триггером которого является интеграция вируса; назначение ингибитора интегразы - ралтегравира прекращало ВИЧ-1-индуцированную гибель CD4-клеток.

Кроме того, важен и аутоиммунный процесс. Структура gp120 несет аллоэпитопы, которые идентичны эпитопам молекул МНС II класса, рецептора ИЛ-2, тимозина и ряда других. Именно аллоэпитопы вирусной оболочки позволяют ВИЧ уйти от иммунологического надзора и беспрепятственно проникать в клетки-мишени. Нарушения в транспортировке CD4-лимфоцитов при ВИЧ-инфекции также являются причиной снижения Т-хелперов в крови пациентов (Кетлинский С.А., 2008). CD4-клетки, экспрессирующие рецепторы для ВИЧ - CD4 и CXCR4, направляются в костный мозг, приводя к множественной утрате клеток из периферической крови и тканей, где они обычно находятся. Особенно важно, что Т-хелперы 1 типа, контролирующие развитие вируса, несут на своей поверхности преимущественно CXCR3, и в связи с этим их траффик может быть изменен, и они также могут покинуть предназначенные для них места в лимфоидных органах (Sallusto F. et al., 1998).

ВИЧ влияет на функциональную активность В-лимфоцитов, увеличивая синтез иммуноглобулинов и особенно продукцию IgG. Большинство антител, несмотря на присутствие вируса, являются неспецифическими (лишь около 5% от всех иммуноглобулинов – специфические) и их вырабатывается значительно больше, чем нормальными В-клетками. Гиперпродукция иммуноглобулинов нарастает в процессе развития инфекции (Рахманова А.Г. и др., 2004; Хофман Ч. и др., 2005; Lederman M. et al., 2004). По данным Jelacic K. et al., 2013, протеин оболочки ВИЧ gp120 связывается и включается в сигнальный путь через $\alpha 4\beta 7$ на наивных В-клетках, что приводит к абортивному пролиферативному ответу. В

первичных В-клетках сигналы gp120 через $\alpha 4\beta 7$ приводят к повышению экспрессии иммуносупрессивного цитокина ТФР- $\beta 1$ и FcRL4, ингибиторного рецептора, экспрессирующегося на В-клетках. Таким образом, в дополнение к хронической активации иммунной системы, вирусные белки вносят прямой вклад в ВИЧ-ассоциированную В-клеточную дисфункцию. При ВИЧ-инфекции наблюдается нарушение В-клеточного гомеостаза, снижение числа В-клеток памяти и нарушение функции IgM и IgG антител (Yin L. et al., 2013). ИЛ-6 играет главную роль в терминальной В-клеточной дифференцировке в иммуноглобулин секретирующие клетки. Оболочечный белок вируса gp120 действует напрямую на CD4 клоны Т-клеток, индуцируя синтез ИЛ-6 и увеличивая его продукцию (Бобкова М.Р., 2006; Рахманова А.Г. и др., 2004). Увеличенное количество продуцируемых цитокинов может быть связано с активацией клеток-продуцентов суперантигенами, которые имеются в структуре вируса. Возможно, что суперантигены способствуют мощному выбросу цитокинов, среди которых ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-6, ФНО и ИЛ-10 могут стимулировать продукцию антител, с одной стороны, а с другой – способствовать гибели ВИЧ-инфицированных В-лимфоцитов (Кетлинский С.А., 2008).

Цитокины, вовлеченные в гомеостатическую регуляцию иммунного ответа, такие как ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО, усиливают экспрессию ВИЧ. Комплекс иммунорегуляторных сетей цитокинов, поддерживающих иммунный гомеостаз, даже в течение стадий кажущейся иммунологической стабильности при ВИЧ-инфекции способствует поддержанию постоянного уровня вирусной экспрессии в течение продолжающегося бессимптомного периода инфекции.

Уровни многих циркулирующих цитокинов (ИФН γ , ФНО, ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-10) повышены у пациентов с ВИЧ-инфекцией. ВИЧ и его структурные компоненты индуцируют экспрессию цитокинов в различных типах клеток (Graziosi C. et al., 1996; Norris P.J. et al., 2006; Sinicco A. et al., 1993; von Sydow M. et al., 1991). Повышение уровней ФНО и ИЛ-1 β в сыворотке крови больных ВИЧ-инфекцией отмечено многими авторами (Barcellini W. et al., 1996; Graziosi C. et al., 1996; Norris P.J. et al., 2006; Rizzardì G.P., 1996; Sinicco A. et al., 1993; von Sydow M. et al., 1991).

Увеличение продукции ИЛ-1 приводит к активации Т- и В-лимфоцитов, что способствует увеличению числа инфицированных ВИЧ клеток. ИЛ-1 β индуцирует продукцию ИЛ-6, действующего на пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов. ИЛ-1 β способствует запуску апоптоза Т-хелперов 1 типа, индуцирует экспрессию рецепторов для ФНО, обуславливая еще большие нарушения в иммунной системе. ФНО усиливает пролиферацию Т-клеток, способствуя тем самым активации репликации вируса, находящегося в «дремлющем» состоянии, индуцирует продукцию ИЛ-1 β и ИЛ-6. Кроме того, ФНО оказывает также прямое цитотоксическое действие на инфицированные ВИЧ Т-лимфоциты.

Кроме вирусных структурных белков геном ВИЧ кодирует ряд регуляторных белков, которые влияют на вирусную репликацию и нормальную физиологию клетки. Регуляторный белок Tat оказывает влияние на клеточный ответ, включая индукцию экспрессии генов ФНО и ИЛ-6 (Buonaguro L. et al., 1992). ФНО, в свою очередь, усиливает синтез и продукцию провоспалительных цитокинов ИЛ-1 и ИЛ-6, а они усиливают экспрессию генома ВИЧ (Norris P.J. et al., 2006).

У пациентов с ВИЧ-инфекцией изменены синтез и продукция многих цитокинов. Эти нарушения опосредуют белки вируса, попадая в циркуляцию. Рекомбинантный gp120 ВИЧ при взаимодействии с мононуклеарами периферической крови индуцирует широкий спектр цитокинов, таких как ИФН- α , - γ , ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-1 α , - β , ФНО, но не влияет на продукцию ИЛ-2 и ИЛ-4 (Ameglio F. et al., 1994). В последнее время большая роль в хронической активации иммунной системы отводится интерферону- α , который вырабатывается плазмацитоподобными дендритными клетками.

Как известно, для инициации иммунного ответа Т-клетки должны перейти из состояния покоя в активированное состояние, что и происходит под воздействием антигенов (Ройт А., 2000). Переход Т-клеток в активированное состояние сопровождается синтезом *de novo* ИЛ-2. Покоящиеся Т-клетки не экспрессируют высокоаффинных рецепторов к ИЛ-2, но после активации их экспрессия происходит достаточно быстро. Взаимодействие ИЛ-2 с его индуцированными клеточными рецепторами вызывает клеточную пролиферацию, кульминацией

которой является появление эффекторных клеток, необходимых для полной реализации иммунного ответа (Кетлинский С.А., 2008). При ВИЧ-инфекции покоящиеся Т-клетки экспрессируют ИЛ-2R α , но число лимфоцитов, экспрессирующих рецепторы, достоверно снижено, причем вирус индуцирует увеличение скорости сбрасывания ИЛ-2R α с поверхности клетки (Zola H. et al., 1991). Этим объясняется повышение у пациентов с ВИЧ-инфекцией растворимых форм ИЛ-2R α в сыворотке крови. Известно, что на активированных Т-лимфоцитах изменяется экспрессия одного из рецепторов ИЛ-2 – p55 (CD25-антиген или α -цепь рецептора ИЛ-2) (Кетлинский С.А., 2008).

Прогрессирующая Т-клеточная дисфункция сопровождает ВИЧ-инфекцию и характеризуется вначале исчезновением пролиферативного ответа на «забытые» антигены, затем на аллогенную стимуляцию и в конечном счете – отсутствием ответа на митогены. При этом наблюдаются изменения цитокинового профиля: снижение и исчезновение продукции ИЛ-2 и ИФН γ сопровождается подъемом продукции ИЛ-4 и ИЛ-10 мононуклеарами периферической крови ВИЧ-инфицированных пациентов после стимуляции антигеном или митогенами (Clerici M., Shearer G.A., 1993; Graziosi C., 1994; Fust G. et al., 1995; Navikas V. et al., 1995). Эти изменения знаменуют переход из Th1 в Th2, т.е. клеточного иммунитета в гуморальный, преобладание последнего ассоциируется с прогрессированием ВИЧ-инфекции. Механизм, контролирующий данное переключение, является многофакторным, но ВИЧ играет непосредственную и активную роль в этом процессе, изменяя продукцию иммунорегуляторных цитокинов. Дисбаланс продукции провоспалительных и Т-регуляторных цитокинов при ВИЧ-инфекции играет роль пускового механизма для программированной клеточной гибели – апоптоза (Abbas W., Herbein G., 2013). ВИЧ, вызывая гиперпродукцию ИЛ-1, ФНО, ИЛ-6 и гипопродукцию главного ростового фактора Т-лимфоцитов – ИЛ-2, способен вызывать высокую степень апоптотических процессов в лимфоидных клетках и играть решающую роль в механизме гибели CD4 $^{+}$ Т-лимфоцитов. Остается актуальной проблема выявления и уничтожения ВИЧ в покоящихся клетках, что позволило бы избавиться от вируса во всех зараженных клетках, а не

только в клетках иммунной системы (Levy J.A., 1995). Возможно добиться полного устранения вируса могла бы иммунотерапия, особенно начатая на ранних сроках, когда число зараженных клеток еще невелико. Знание иммунопатогенеза приведет к возможности создания новых препаратов, которые могли бы не только сдерживать ВИЧ-инфекцию, но и излечивать ее, так как длительное лечение сталкивается с немалыми трудностями, связанными с побочными эффектами и развитием лекарственной устойчивости.

1.1.2. Иммунный ответ и роль цитокинов при ВГС моноинфекции

Инфицирование HCV приводит к выраженным нарушениям в иммунном ответе, проявляющимся снижением числа лимфоцитов и их субпопуляций (CD4, CD8, CD16) с одновременной активизацией гуморального звена с повышением выработки IgM, IgG, отражающим преобладание Th-2 ответа над Th-1, что не обеспечивает полноценной противовирусной защиты (Мицура В.М., 2004; Попова Л.Л., 2009). В трех исследованиях (Roe B. et al., 2009; Shen T. et al., 2010; Yonkers N.L. et al., 2011) сообщается о более низких процентах наивных CD4⁺ Т-клеток и в одном и низких CD8⁺ Т-клеток у пациентов с HCV и вирусемией по сравнению с HCV-серонегативными лицами. Тем не менее, широкое влияние хронической ВГС инфекции на общую дифференциацию и активацию Т-клеток, в том числе Т-клеток, которые не являются специфическими для антигенов HCV, до конца не выяснено. В настоящее время неспецифическую иммунную активацию у лиц с хронической HCV инфекцией, согласно выдвинутой гипотезы, связывают с развитием внепеченочных поражений, в том числе диабета и сердечно-сосудистых заболеваний, которые часто диагностируются у этих пациентов (Lee M.H. et al. 2012; Nelson K.E. 2012; Petta S., et al. 2012).

При этом центральную роль в регуляции развития как местного иммунитета в месте локализации возбудителя, так и общей реакции организма на патоген отводят цитокинам (Ивашкин В.Т. и др., 2002). Цитокины служат важнейшими медиаторами клеточных взаимодействий, обеспечивая передачу сигнала, обмен

информацией между клетками одного органа, связь между органами и системами как в физиологических условиях, так и при действии различных патогенных факторов, в том числе инфекционных. У здоровых людей содержание цитокинов в биологических жидкостях минимально, они выявляются в микрообъемах, достаточных для проявления биологического эффекта. При патологических состояниях общее число и содержание отдельных цитокинов резко возрастает.

В зависимости от конкретных условий цитокины могут стимулировать либо ингибировать физиологические и патологические процессы (рост, пролиферацию, старение клеток, гемопоэз, апоптоз, воспаление, иммунный ответ, метаболизм, регенерацию тканей и др.) (Авдеева Ж.И. и др., 2002; Гольденберг Е.А. и др., 2001; Ройт А. и др., 2000; Труфакин В.А., 2001; Фрейдлин И.С., 1999; Хаитов Р.М. и др., 2000; Ярилин А.А., 1997). Известно, что цитокины обеспечивают взаимодействие клеток внутри печени и связь печени с другими органами как в физиологических условиях, так и при действии различных патогенных факторов, в том числе вирусной инфекции. Почти единодушным является признание повышенного содержания в сыворотке крови таких цитокинов, как ИЛ-1, ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-10, и снижение концентрации ИЛ-2, ИФН- γ (Курамшин Д.Х., 2001; Маммаев С.Н., 2001; Симбирцев А.С., 2004; Herbein G. O'Brien W.A., 2000). Однако в работах Л.С. Приймаги с соавт. (2002, 2004) отмечено повышенное содержание сывороточного ИФН- γ у пациентов с ХГС по сравнению с контрольной группой и отсутствие различий в концентрации ИЛ-2 между группами больных и здоровых людей. В то время как в работах других авторов зафиксировано значимое повышение уровня ИЛ-2 в сыворотке крови больных ХГС по мере прогрессирования нарушений клеточного иммунитета, проявляющихся в первую очередь снижением CD4-лимфоцитов, иммунорегуляторного индекса (Мицура В.М., 2004; Сапронов Г.В., 2003). Высокое содержание цитокинов при вирусных поражениях печени может быть обусловлено не только увеличением их синтеза, но и нарушением клиренса, своевременного выведения их из организма, а также нарушением их инактивации поврежденной печенью (Курамшин Д.Х., 2001; Носик Н.Н., 2000). Избыточное количество цитокинов, их чрезмерный выброс в свою очередь может стать

фактором прогрессирования патологического процесса, оказывать прямое повреждающее действие на паренхиматозные клетки, опосредуя различные клинические проявления ХГС.

В иммунопатогенезе ХГС важную роль играет нарушение баланса продукции цитокинов Th1/Th2 клетками (Ивашкин В.Т., 2002; Курамшин Д.Х., 2001; Маммаев С.Н., 2001; Мезенцева М.В. и др., 2002; Попова Л.Л., 2009). Дисбаланс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в пользу последних может приводить к нарушению лизиса зараженных гепатоцитов и элиминации вирусных частиц с развитием хронического воспаления (Давтян Т.Л., 2002; Маммаев С.Н., 2001; Носик Н.Н., 2000). У большинства больных ХГС наблюдается неспособность клеточного, гуморального и цитокинового ответа элиминировать вирус. В попытке уничтожить вирус иммунная система приводит к распространению повреждения печени, которое часто наблюдается у больных ХГС (Бусеверов А.О. и др., 2002; Корочкина О.В. и др., 2002; Dumoulin F.L. et al., 2001). Синтез комплекса провоспалительных цитокинов из семейств ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО и хемокинов стимулирует большинство дальнейших событий в развитии воспалительной реакции и обеспечивает всеорное расширение активации различных типов клеток, включая все типы лейкоцитов, дендритные клетки, Т- и В-лимфоциты, НК-клетки, клетки эндотелия и эпителия, фибробласты и др. Это обеспечивает последовательные этапы развития воспалительной реакции, являющейся основным механизмом реализации врожденного иммунитета. При обострении хронических вирусных гепатитов установлена роль повышенной продукции провоспалительных цитокинов: ИЛ-1, ИЛ-6, TNF α и плеiotропных цитокинов: ИЛ-2, IFN γ в качестве неблагоприятных факторов прогноза с предположением, что названные цитокины могут участвовать в процессах альтерации тканей, в частности усиливая прогрессирование фиброза и воспаления в области портальных трактов у больных ХГС. Широкий спектр биологической активности ИЛ-1 свидетельствует, что этот цитокин является главным медиатором развития местной воспалительной реакции и острофазового ответа на уровне всего организма. ИЛ-1 способны продуцировать моноциты, макрофаги, клетки

микроглии, астроциты, фибробласты. Одним из сильнейших стимулов для продукции ИЛ-1 является ФНО- α , но ИЛ-1 также может стимулировать продукцию ФНО- α (Ройт А., 2000; Ярилин А.А., 1999). Установлена прогностическая роль повышенной продукции ИЛ-1 и ФНО- α как неблагоприятных факторов при обострении хронических заболеваний печени (Царегородцева Т.М., 2003; Fabris C. et al., 1999; Piazzola G. et al., 2000). При этом уровни данных цитокинов отражают степень мезенхимального воспаления в печени при ХГС лучше, чем ее биохимические параметры воспаления (Астахин А.В., 2002; Гусев Д.А. и др., 2001; Лукина Е.А. и др., 2000).

Цитокины, продуцируемые Th1-лимфоцитами ИФН- γ , ИЛ-2 усиливают клеточный иммунитет, при котором CD8⁺ лимфоциты ингибируют гуморальный иммунитет и дают защитный эффект против инфекционных агентов, инактивируемым благодаря реакциям клеточного иммунитета (Barnes E. et al., 2004; Ward S. et al., 2002). В ряде работ показано, что при хронизации ВГС-инфекции наблюдаются слабый CD4⁺-Т-клеточный ответ и обратное соотношение числа Th (преобладание количества Th2) и продуцируемых ими цитокинов (Accapezzato D. et al., 2004; Wedemeyer H., 2003). M.G. Neuman et al. (2001) и N. Boyer et al. (2002) считают, что недостаток продукции ИЛ-2 может способствовать хронизации HCV-инфекции. Th2-цитокины (ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-13) усиливают гуморальный иммунитет и ингибируют клеточный ответ (Neuman M.G. et al., 2002; Rehmann B., 2003). Повышенные уровни ФНО- α в плазме крови больных ХГС установлены многими исследователями (Маммаев С.Н. и др., 2001; Приймаги Л.С. и др., 2002; Yoshioka K. et al., 1999); при этом его содержание в сыворотке крови больных ХГС отражает его уровень в печени, значительно превышая уровни здоровых лиц, и возрастает с увеличением активности воспаления (Шапиро И.Я., 2002). ФНО- α играет значительную роль в координации воспалительного ответа и цитокинового каскада, дает гепатотоксический эффект, принимает участие в апоптозе инфицированных гепатоцитов и препятствует циклу репликации гепатотропных вирусов (Ярилин А.А. и др., 2000, Gremion C. et al., z. Он синтезируется Т-лимфоцитами 1 типа и играет важную роль в качестве

макрофагаактивирующего фактора, стимулятора функциональной активности CD8-клеток и NK-клеток (Радченко В.Г., 2004; Ройт А., 2000; Freeman A.J. et al., 2001). Высокий уровень продукции ИФН- γ обычно ассоциируется с эффективным иммунным ответом против внутриклеточных патогенов. У больных ХГС характерно снижение индуцированной продукции мононуклеарами ИФН- γ – маркера активированных Th1-клеток, что расценивается как изменение субпопуляционного соотношения Т-хелперов в пользу преобладания Th2 и служит патогенетическим признаком неоптимальной стратегии иммунного ответа при HCV-инфекции (Лукина Е.А. и др., 2000; Никитин В.Ю., 2001; Рындина Е.И., 2001; Ющук Н.Д. и др., 2000). Однако в ряде работ показано увеличение содержания ИФН- γ в периферической крови, что, по мнению авторов, способствует поддержанию воспалительного процесса в очаге поражения, увеличению цитотоксической активности клеток, инфильтрирующих пораженные ткани (Приймаги Л.С. и др., 2004; Царегородцева Т.М., 2003).

ИЛ-2 играет ключевую роль в формировании иммунного ответа, синтезируется Th1-клетками. Этот цитокин инициирует и регулирует преимущественно клеточный иммунный ответ, стимулирует пролиферацию и дифференцировку Т- и В-лимфоцитов в клетки-эффекторы, синтез цитокинов, антител (Ройт А., 2000; Ярилин А.А., 1999). Наличие рецептора к ИЛ-2 (CD25) служит одним из показателей морфофункциональной зрелости иммунокомпетентных клеток. Повышение в периферической крови содержания растворимых рецепторов к ИЛ-2 (ИЛ-2р) – показатель активации иммунокомпетентных клеток, прежде всего Th1 типа. Низкий уровень ИЛ-2, ИЛ-2р, CD25 на лимфоцитах периферической крови, наблюдаемый в ряде случаев при хронических вирусных гепатитах, свидетельствует об угнетении иммунного ответа, что затрудняет элиминацию вирусов, способствует их длительной персистенции в организме (Буеверов А.О. и др., 2002; Царегородцева Т.М. и др., 2001).

ИЛ-10 - противовоспалительный цитокин, ингибирующий весь Th1-ответ, продукцию ИФН- γ , ИЛ-2, а также повышает активность Th2-типа и синтез продуцируемых ими цитокинов – ИЛ-4, 6, 10 (Ройт А., 2000; Ярилин А.А., 1999).

Повышение ИЛ-10 ведет к снижению противoinфекционной защиты и развитию хронических инфекций (Тотолян А.А., 2000; Хаитов Р.М., 2000). При хронической HCV-инфекции рядом авторов отмечено его повышение в сыворотке крови (Буеверов А.О. и др., 2002; Гусев Д.А. и др., 2001; Лукина Е.А. и др., 2000; Мансурова Ф.Х., 2005; Никитин В.Ю., 2001; Рындина Е.И., 2001; Царегородцева Т.М. и др., 2001).

Белковые продукты вируса гепатита С могут блокировать внутриклеточную передачу сигналов от рецепторов интерферона, а также, индуцируя секрецию ИЛ-10 и ИЛ-4, угнетать продукцию ИЛ-2 и ИФН- γ активированными Т-лимфоцитами (Delpuech O. et al., 2001; Woitas R.P. et al., 2002). Это может воздействовать на баланс влияний Th1 и Th2 лимфоцитов и вызывать смещение его в пользу Th2, что, вероятно, является частью стратегии выживания вируса и одним из механизмов нарушения адекватного иммунологического реагирования при ХГС (Курамшин Д.Х. и др., 2001; Маммаев С.Н. и др., 2001; Сенников С.В., 2003; Симбирцев А.С., 2004; Herbein G., O'Brien W.A., 2000).

Таким образом, цитокины характеризуются широким спектром биологических свойств, многофункциональностью, универсальностью, плейотропностью, играя важную роль в иммунном ответе, модулируя реакции клеточного и гуморального звеньев иммунного статуса, участвуют в контроле вирусной репликации, приводящее к гепатоцеллюлярному повреждению при ХГС. Для повышения эффективности комбинированного лечения (ИФН-альфа и рибавирином) является возможным и обоснованным патогентически назначение рекомбинантных цитокиновых препаратов (см. главу 4). Данные литературы о содержании и биологических свойствах цитокинов у пациентов ХГС (и в частности у "неответчиков" на первичную ПВТ HCV-инфекции), их роли в заболевании и при проведении ПВТ весьма противоречивы, что требует дальнейших исследований в этом направлении.

1.2. Противовирусная терапия ХГС на современном этапе у ВГС-моноинфицированных

Элиминация циркулирующего HCV после прекращения терапии позволяет предотвратить осложнения заболевания печени, вызванного HCV, включая некровоспаление, фиброз, цирроз и ГЦК, развитие нейрокогнитивности (Alsop, D. et al., 2014). Конечной точкой терапии как у моно- так и у пациентов с сочетанной инфекцией ВГС/ВИЧ является стойкий вирусологический ответ (СВО), определяемый как неопределяемая РНК ВГС через 12 или 24 недель (при чувствительности молекулярных методов ≤ 15 Мг/мл), учитывая, что их соответствие 99% (Chen J. et al., 2013; Martinot-Peignoux, M. et al., 2010). Длительные наблюдения показали, что СВО соответствует окончательному излечению инфекции HCV более чем в 99% случаев (Swain, M.G. et al., 2010) и как правило, связано с прекращением воспалительных явлений в печени у больных без цирроза. Пациенты с циррозом печени остаются в группе риска угрожающих жизни осложнений, в частности, ГЦК может наблюдаться даже после эрадикации вирусной инфекции (van der Meer, et al., 2012). HCV-осложнения такие как, ГЦК или трансплантация печени связаны с высокими медицинскими расходами и уровнем использования ресурсов здравоохранения (El Khoury A.C. et al., 2012), следовательно, любое сокращение частоты осложнений, связанных с HCV может иметь значительные долгосрочные экономические выгоды. Согласно последним европейским рекомендациям (EASL, 2015), все наивные и пролеченные пациенты с компенсированным и декомпенсированным заболеванием печени, вызванным HCV, которые готовы лечиться и у кого нет противопоказаний, должны быть рассмотрены как кандидаты на терапию. При наличии широкого выбора лекарственных комбинаций лечение должно быть приоритетным; показания будут зависеть от генотипа ВГС/подтип, тяжести заболевания печени и/или результатов предшествующей терапии. Прогресс в терапии гепатита С идет невероятно быстро, новые препараты позволяют достичь вирусологического ответа в 95% в более короткие сроки лечения с меньшим количеством побочных эффектов, однако

доступ к этим препаратам колеблется в различных европейских странах, из-за высокой стоимости лечения, в настоящее время, например, 12-недельный курс терапии софосбувиром стоит \$84,000 это примерно 1000 долларов за таблетку (Hoofnagle J.H., Sherker A.H., 2014), при этом нужно учитывать, что пациенты в большинстве случаев из групп риска и высока вероятность реинфекции. И несмотря на прогресс и успех в вирусной эрадикации многочисленные вопросы остаются без ответа, например, как ответ на ПВТ будет зависеть от расы, у по-прежнему трудно поддающихся лечению больных с терминальной стадией заболевания печени или находящихся на гемодиализе; доступа и доступности этих методов лечения, улучшение качества жизни и эффективности затрат.

Комбинация пегилированного интерферона-альфа (Пег-ИФН-α) и рибавирина являлась стандартом лечения ХГС до 2011 г (Ghany M.G., 2009; de Bruijne J. et al., 2008; McCaughan G.W., 2007; Sarrazin C. et al., 2010) и основывалась на использовании одного из двух доступных препаратов Пег-ИФН-α еженедельно подкожно в комбинации с ежедневной дозой рибавирина внутрь; Пег-ИФН-α2a применялся в дозе 180 мкг/нед, доза Пег-ИФН-α2b - в зависимости от массы тела 1,5 мкг/кг/нед. Лечение Пег-ИФН-α и рибавирином считается фармакоэкономически эффективным даже при ранних стадиях фиброза (Grieve R. et al., 2006; Sroczynski G. et al., 2010; Wright M. et al., 2006). В настоящее время согласно рекомендациям EASL (2015) шесть вариантов лечения доступны для пациентов, инфицированных ВГС генотипа 1, в том числе две ИФН-содержащие схемы и четыре безинтерфероновых режима. В условиях, когда ни один из предложенных вариантов не доступен, комбинации Пег-ИФН-α и рибавирина или тройной комбинация Пег-ИФН-α, рибавирина и либо телупревил/боцепревил, остаются приемлемыми для отдельных пациентов (EASL 2015). При генотипах HCV-2/3 из безинтерфероновых схем возможно назначение только 2 комбинации (софосбувир+даклатасвил, софосбувир и рибавирин) и остаётся в арсенале интерфероновая схема Пег-ИФН-α+рибавирин+софосбувир. У моноинфицированных HCV пациентов с генотипом 1 уровни СВО при использовании ПегИФН-α и рибавирина в большинстве клинических исследований составляют порядка 40%

в Северной Америке и 50% в Западной Европе, при 2/3 генотипах уровни значительно выше (порядка 80%, выше у пациентов с генотипом 2 (Awad T., 2010). Усилия по сокращению заболеваемости и смертности ХГС были исторически ограничены низким уровнем СВО при генотипе 1 у получавших Пег-ИФН- α и рибавирин (McHutchison J.G. et al., 2009). Причиной неэффективности ПВТ больных ХГС, препятствующих проведению адекватного и полного курса лечения ИФН- α и рибавирином, также является развитие гематологических нежелательных явлений (НЯ), при достижении определенной степени выраженности они могут снижать качество жизни, приверженность к ПВТ, что повышает вероятность снижения доз препаратов, перерывов и отмены лечения и, как следствие, низкая частота достижения СВО (Бурневич Э.З., 2006; Sulkowski M.S., 2005). При этом, именно с применением ИФН- α прежде всего связано развитие нейтропении и тромбоцитопении во время проведения ПВТ (Шифф, Ю. Р. и др., 2010). Данные исследований показали, что содержание тромбоцитов снизилось приблизительно у 20-30% пациентов в период комбинированного лечения Пег-ИФН- α и рибавирином; среднетяжелая и тяжелая тромбоцитопения, определяемая как содержание тромбоцитов <50000 кл/мкл отмечалась у 1-4% пациентов. Следует отметить, что ряд исследователей указывает на то, что тромбоцитопения с уровнем менее 50000 кл/мкл встречалась в 5% случаев при терапии Пег-ИФН- α и рибавирином, по сравнению с ПВТ обычными интерферонами и рибавирином - в 2% случаев (Fried M.W. et al., 2002; Manns M.P. et al., 2001). По результатам исследований нейтропения послужила поводом для модификации доз у 6-8% больных при применении ИФН- α и рибавирина и у 18-21% при применении ПегИФН- α и рибавирина согласно критериям, рекомендованным к широкому клиническому применению (Бурневич Э.З., 2006). Основные подходы в борьбе с гематологическими осложнениями предусматривают назначение гемопоэтических лечебных средств или снижение доз противовирусных препаратов, что не всегда возможно при применении Пег-ИФН- α ; всё это приводит к отмене ПВТ в 10-15% или повышению общей стоимости курсового лечения, альтернативой при этом может быть выбор наиболее безопасных лекарственных средств или схем ПВТ.

Применение комбинированной ПВТ Пег-ИФН- α и рибавирином для пациентов в России ограничено из-за высокой стоимости, а средства из государственного бюджета не покрывают затраты на лечение всех больных. Ежедневное введение стандартных ИФН- α в высоких дозах, хотя и не относится к современным международным стандартам, но часто и не без успеха используется в практической медицине, поскольку авторы во многом ориентируются на аналогичные исследования за рубежом, где в качестве основного аргумента подобного терапевтического режима рассматривается их максимальное приближение к профилю Пег-ИФН- α (Еналеева Д.Ш., 2011; Крель П.Е., 2000; Лопаткина Т.Н., 2001; Bruno R., 1998). Индукционный метод введения стандартного ИФН- α сохраняет оптимальный баланс между противовирусной активностью и длительностью периода полувыведения «короткоживущих» ИФН- α , способствуя повышению вирусологического ответа (Еналеева Д.Ш. и др., 2011). По данным отечественных исследователей при сравнительном анализе двух схем ПВТ - ИФН альфа-2b в дозе 3 млн. МЕ подкожно 3 раза в неделю и РБВ 15 мг/кг в сутки внутрь на протяжении 48 недель и Пег-ИФН- α -2a 180 мкг в неделю подкожно в сочетании с РБВ 15 мг/кг в сутки внутрь в течение 48 недель было выявлено, что пациентов у с ХГС (генотип 1), минимальным фиброзом печени и низкой вирусемией частота достижения СВО 57,5% и 70% соответственно, с установлением благоприятного профиля безопасности, меньших финансовых затрат при сопоставимой клинической эффективности, что позволяет считать комбинированную терапию на основе стандартного интерферона альфа-2b альтернативой противовирусной терапии с применением пегилированного интерферона-альфа 2a (Богомолов П.О. и др., 2013).

1.3. Противовирусная терапия ХГС с учетом особенностей инфекционного процесса у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией

Даже при успешной терапии ВИЧ-инфекции и стойком подавлении репликации ВИЧ, риск печеночной декомпенсации выше у пациентов с сочетанной

ВГС/ВИЧ инфекцией, чем у моноинфицированных ВГС (Thein Н.Н., 2008). Тяжелый фиброз печени и цирроз печени были также обнаружены у 10%-25% пациентов с ВГС/ВИЧ инфекцией при высокой ВН РНК ВГС, но с уровнями АЛАТ в пределах здоровых лиц (Maida I. et al., 2007; Martin-Carbonero L. et al., 2009). Частота выраженного фиброза и развития ГЦК у пациентов с ХГС также значительно выше у ВИЧ инфицированных (Покровский В.И., 2008; Brau N. et al., 2005; Sulkowski M., 2013). Вероятность развития тяжелого поражения печени особенно высока, у пациента с ВИЧ-инфекцией при уровне CD4+ клеток <200/мкл и употребление алкоголя >50 г/сут (в пересчете на чистый спирт), рассчитанная медиана времени до развития цирроза печени составляет 16 лет, при уровне CD4+ лимфоцитов >200/мкл и употреблении алкоголя в количестве <50 г/сут этот показатель составляет 36 лет (Бартлетт Д., 2006). Кроме того ВГС/ВИЧ инфекция связана с ускоренным течением ВГС, вероятно, вследствие нарушений иммунного ответа, сниженным ответом на терапию ВГС и отменой анти-HCV лечения в результате побочных эффектов препаратов (Avidan N.U. et al., 2009; Macias J. et al., 2009). При достижении стойкого ответа на лечение у ВИЧ-инфицированных рецидивы ВГС-инфекции развиваются не чаще, чем у пациентов без ВИЧ-инфекции, даже несмотря на нарастание выраженности иммунодефицита, что свидетельствует о возможности элиминации ВГС-инфекции на фоне ВИЧ (Soriano V. et al., 1997).

Известны особенности инфекционного процесса ВГС у ВИЧ-инфицированных пациентов: повышенный уровень репликации РНК ВГС в сыворотке крови (примерно в 2 раза и выявляется у 75-98% анти-HCV-положительных пациентов); частое серонегативное течение (при отсутствии анти-HCV в 2-6% случаев обнаружение РНК ВГС в ПЦР, в ряде популяций до 20% случаев), что обусловлено дефицитом антительного иммунного ответа, усугубляющимся при прогрессировании ВИЧ-инфекции; более высокая ВН РНК ВГС (примерно в 3-10 раз – возрастает непосредственно после сероконверсии ВИЧ и повышается при снижении уровня CD4-клеток), что может способствовать более быстрому прогрессированию гепатита (Макарова И.В., 2011; Netski D.M., 2007).

Механизмы, объясняющие более быстрое течение заболевания печени у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией еще до конца не ясны, но выделяют несколько причин влияния активной HCV-инфекции на ВИЧ. Сочетание двух вирусов ВГС и ВИЧ может повышать иммунную активацию, что приводит к апоптозу CD4⁺-клеток у нелеченных пациентов с ВИЧ и как следствие быстрому прогрессированию заболевания вплоть до тяжелого иммунодефицита (Korner C. et al., 2009). Данные исследований показали более высокие уровни Т-клеточной активации у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией по сравнению с ВИЧ-моноинфицированными (Kovacs A. et al., 2008; 2010; Gonzalez V.D. et al., 2009). Хроническая иммунная активация может приводить к иммунной дисфункции и продукции цитокинов, вызывая усиление репликации ВИЧ и ВГС и снижение уровней Т-клеток (Kovacs A. et al., 2010).

Иммунная активация, вызванная ВИЧ, индуцирует изменения цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13, ТФР- β), которые повышают воспаление и фиброз печени (Kim A.Y., 2009; Roe B., 2008), а также может провоцировать повышение транскрипции ВИЧ в инфицированных клетках и вызывать более быструю деструкцию CD4⁺-лимфоцитов. Сочетанная инфекция ВГС/ВИЧ повышает апоптоз гепатоцитов через путь Fas/FasL, что приводит к более быстрому прогрессированию заболевания печени (Kim A.Y., 2009; Roe B., 2008). Аккумуляция CD8-лимфоцитов в печени повышает уровень медиаторов воспаления у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией по сравнению с HCV-моноинфицированными и ведет к большему тканевому повреждению (Kuntzen T. et al., 2008; Nakamoto N. et al., 2008). Имеются исследования, показывающие, что у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией ВИЧ-специфичные CD8-лимфоциты аккумулируются в печени и продуцируют ФНО- α , который ассоциирован с фиброзом печени (Kim A.Y., 2009; Vali B. et al., 2008). Кроме инфицирования, белки ВИЧ индуцируют апоптоз гепатоцитов и высвобождение воспалительных хемокинов и цитокинов, которые способствуют фиброзу (Roe B., 2008; Kim A.Y., 2009). Все больше данных появляется, доказывающие репликацию ВИЧ в гепатоцитах и звездчатых клетках печени (ЗКП) (Blackard J.T., 2008; Kim A.Y.,

2009; Tuuama A.C. et al., 2010). ВИЧ-инфекция активированных ЗКП стимулирует экспрессию коллагена и секрецию провоспалительных цитокинов (Tuuama A.C. et al., 2010).

Клинические исследования взаимного влияния ВГС и ВИЧ дают разноречивые результаты, хотя ряд исследователей считают, что ВГС является важным фактором прогрессирования ВИЧ (Жужгова И.В., 2006; Шахгильдян И.В., 2003; Kim A.I., 2007; Labarga P. et al., 2007). Имеются сведения, согласно которым ВГС-инфекция представляет собой неблагоприятный фактор для ВИЧ-инфицированных пациентов, ускоряя снижение уровня CD4⁺ клеток вследствие чего возрастает риск летального исхода вследствие развития СПИДа (Piroth L. et al., 1998). По данным исследований у пациентов с ВГС/ВИЧ инфекцией концентрация РНК ВГС прямо связана с уровнем прогрессии ВИЧ-инфекции и летальностью от СПИДа, а также при 1 генотипе ВГС выявлен больший риск прогрессии ВИЧ-инфекции, развития СПИДа с летальным исходом по сравнению с генотипами 2 и 3 (Daar E.S., et al., 2001; Sabin C.A., et al., 1997). ВГС-инфекция может вызывать митохондриальную дисфункцию, что повышает риск развития печеночной недостаточности у ВИЧ-инфицированных, получающих в составе ВААРТ нуклеозидные аналоги (Barbaro G., et al., 1999). У пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией выше риск развития гепатотоксичности, что приводит к отмене ВААРТ (Melvin D.C. et al., 2000). При назначении антиретровирусной терапии пациентам с ВГС/ВИЧ-инфекцией уровень CD4⁺ лимфоцитов в результате терапии повышается незначительно, что является причиной повышенного риска прогрессии ВИЧ-инфекции и летальности от СПИДа (Greub G. et al., 1997).

У пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией заболевание печени прогрессирует быстрее при низких уровнях CD4⁺-клеток и нарушениях в иммунной системе, при этом у пациентов с CD4⁺ >25%, которые получают ИФН-терапию, вероятность достижения СВО выше, чем при более низких процентах CD4⁺лимфоцитов (Opravil M. et al., 2008). В настоящее время терминальная стадия болезни печени наиболее частая причина госпитализации и смерти пациентов с сочетанной инфекцией ВГС/ВИЧ и ведущей причиной является ВААРТ,

приводящая к развитию гепатотоксичности (Бартлетт Д., 2006), проявления которой регистрируются в 3,5 раза чаще у больных хроническими гепатитами, чем у больных в отсутствие болезни печени.

Низкое CD4⁺/CD8⁺ соотношение в настоящее время связывают с иммунной активацией и более высокой заболеваемостью с не СПИД-ассоциированными болезнями на фоне АРВТ (Serrano-Villar S. et al., 2014), что возможно в дальнейшем будет связано с неэффективным лечением ВИЧ-инфекции у пациентов с ВГС/ВИЧ "неответчиков" на ПВТ ВГС-инфекции и низким иммунорегуляторным индексом (ИРИ). Поэтому необходимо задуматься о более раннем начале терапии у таких пациентов (Qurishi N. et al., 2003). Следует также учитывать, что ингибиторы протеазы ВГС метаболизируются через цитохром Р450, что будет усложнять их назначение с АРВТ. Современный подход к лечению ВГС-инфекции аналогичен тому, который в настоящее время используется для терапии ВИЧ-инфекции; антиретровирусные препараты с различными механизмами действия объединены в целях повышения эффективности и предотвращения резистентности. Показания к лечению ВГС инфекции при ВГС/ВИЧ-инфекции такие же, как у пациентов с моноинфекцией ВГС (Alberti A. et al., 2005). Исследования показали, что у лиц с сочетанной инфекцией ВГС-ассоциированная стигма выражена менее, чем у моноинфицированных-ВГС, так как они воспринимают ВИЧ-инфекцию стигматизирующей до такой степени, что их ВГС кажется относительно менее важным для них, при этом эти пациенты же имеют больше информации по лечению гепатита С и ВИЧ в связи с диспансерным наблюдением, получая возможность более тщательного наблюдения при ПВТ ХГС (Braitstein P. et al., 2006; Lekas H.M. et al., 2011). Используются те же режимы Пег-ИФН- α , как и у пациентов без ВИЧ-инфекции. Независимо от генотипа ВГС дозы рибавирина зависят от массы тела (15 мг/кг/день). СВО при использовании Пег-ИФН- α и рибавирина в большинстве клинических исследований при сочетанной инфекции достигается у 27%-44% ВГС/ВИЧ пациентов (Chung R.T. et al., 2004). В последние годы определение стадии фиброза печени проводят неинвазивным методом, что является особенно актуальным у пациентов с сочетанной инфекцией ВГС/ВИЧ, рекомендуется

назначать эластографию до начала ПВТ ХГС для определения степени фибротических изменений ткани печени (Кравченко А.В. и др., 2010).

Мониторинг вирусной нагрузки РНК ВГС в ПЦР проводится на 4 и 12 неделях лечения. В целом уровни СВО у пациентов с ВГС/ВИЧ инфекцией ниже по сравнению с моноинфицированными, пропорционально генотипу ВГС (Sulkowski M.S., 2008). Пациентам с генотипами 2 или 3, с низкой исходной вирусной нагрузкой (менее 400000 МЕ/мл), невысокой степенью фиброза, у которых достигнут БВО, может быть достаточно 24 недель терапии.

В работе Н.Д. Ющука с соавт. (2009) была показана высокая эффективность терапии сочетанной инфекции ВГС/ВИЧ Пег-ИФНа-2а и рибавирином, сопоставимая с эффективностью терапии больных гепатитом С без ВИЧ-инфекции. Полученные результаты авторы связывают с включением в исследование пациентов на ранней стадии ВИЧ-инфекции, не получающих АРВТ, больных ХГС без признаков ЦП, а также дозированием рибавирина по массе тела. Т.е. важны предикторы ответа на ПВТ: исходный уровень вирусной нагрузки, генотип ВГС, дозы и длительность терапии, факторы организма хозяина, такие как индекс массы тела, возраст, инсулинорезистентность, пол и характеристики заболевания печени, включая уровни АлАТ, ГГТ, стадию фиброза или коинфекцию другими гепатотропными вирусами или ВИЧ (Manns M.P., Wedemeyer H., Cornberg M., 2006).

Таким образом, в современных условиях повышения эффективности терапии ВИЧ-инфекции, инфекция ВГС является одной из основных причин заболеваемости и смертности в этой популяции (Monto A. et al., 2010; Pineda J.A. et al., 2010; Smith C., 2010). По сравнению с моноинфицированными ВГС пациентами, у больных с сочетанной инфекцией повышен риск прогрессирования заболевания печени, включая развитие терминального заболевания печени и ГЦК. Частота развития СПИДа и летального исхода, обусловленного вторичными заболеваниями, существенно выше у лиц с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией и находится в прямой зависимости от концентрации РНК ВГС. Эффективность противовирусной терапии ХГС (пегилированный интерферон и рибавирин) у

пациентов лимитирована, во-первых, относительно редким назначением ПВТ ХГС в свете многих обстоятельств (сопутствующая патология, неконтролируемая ВИЧ-инфекция, активная зависимость от психоактивных веществ (Kramer J.R. et al., 2012; Mehta S.H. et al., 2006; Mehta S.H. et al., 2008), во-вторых препараты нового поколения имеют высокую стоимость, что будет ограничивать их широкое назначение. Клеточно-опосредованный иммунный ответ играет центральную роль в иммунопатогенетических механизмах, вовлеченных в процессы вирусного клиренса и персистенции при заболеваниях печени вирусной этиологии. Цитокины, как эндогенные иммуномодуляторы, участвуют в вирусном клиренсе, контроле инфекции, воспалении, регенерации и фиброзе печени (Costantini S. et al., 2010). Вследствие противоречивости данных по динамике ведущих цитокинов сохраняется актуальность изучения их участия в формировании противовирусного иммунного ответа при ВГС и ВГС/ВИЧ-инфекциях в течении естественного инфекционного процесса и на фоне противовирусной терапии ХГС.

1.4. Роль генотипов интерлейкина-28В в противовирусном ответе при лечении ХГС у пациентов с моно-ВГС и ВГС/ВИЧ-сочетанной инфекцией

Самыми сильными предикторами достижения СВО при лечении ХГС Пег-ИФН- α и рибавирином являются недавно идентифицированные полиморфизмы гена, расположенного в 19 хромосоме, рядом с регионом, кодирующим интерлейкин-28В (или ИФН λ 3) (Козина А.Н. и др., 2011; Фазылов В.Х. и др., 2013; Thompson A.J., 2012). Результаты исследования генома были впервые опубликованы в 2005 году и определили связи генотипа с различными фенотипическими признаками в масштабе всего генома прежде всего, наследственными заболеваниями. Были выявлены отдельные вариации в ДНК, обуславливающие заболевания или эффект лекарственных препаратов. Причины практически всех болезней имеют наследственную компоненту, передающуюся от родителя ребенку посредством 3 млрд. пар нуклеотидных остатков, составляющих человеческий геном. Однонуклеотидные полиморфизмы

определяют различия между людьми в определенных генах. Существуют аллели одного гена, и генотип каждого человека формируется из комбинации аллелей, полученных от матери и от отца (каждый человек является гомозиготным или гетерозиготным по данному признаку). Геномные вариации могут быть причиной изменения экспрессии генов, процессинга генных продуктов (белков) или повреждения функциональной активности белков. В зависимости от нуклеотидов в локусах, выделены аллели С (цитозин), Т (тимин), G (гуанин) и соответствующие генотипы: для аллели rs12979860 – CC, CT, TT, а также TT, TG, GG для аллели rs8099917 гена интерлейкина-28В (ИЛ-28В). В работе Lin С.Н. et al. (2011) показано, что rs12979860 из 10 изученных однонуклеотидных полиморфизмов гена ИЛ-28В – самый сильный предиктор вирусологического ответа при генотипе 1 ВГС в лечении Пег-ИФН-α и рибавирином, аллель С rs12979860 является предиктором быстрого снижения вирусной нагрузки и достижения быстрого ВО на 4 неделе лечения. Данные свидетельствуют о связи определенного варианта полиморфизма гена ИЛ-28В с вирусной кинетикой на фоне лечения: у гомозигот по аллели С полиморфизма rs12979860 и инфицированных генотипами 1 или 4 ВГС наблюдались более высокие темпы снижения уровня вирусной нагрузки РНК ВГС в первые 24 часа после первой инъекции ИФН по сравнению с пациентами - носителями генотипов СТ и ТТ генотипов (rs12979860). Другим наиболее часто изучаемым вариантом полиморфизма является rs8099917, также отражающий СВО у пациентов с генотипом 1 ВГС (Grebely J. et al., 2011; Tanaka Y. et al., 2009). С определением генотипа пациента по ИЛ-28В стало возможным изменить алгоритм принятия решения о лечении ВГС-инфекции, что позволяет избежать многих дополнительных проблем при ПВТ пациентов с высокой вероятностью достижения СВО при назначении терапии (избежать дополнительных нежелательных явлений и экономических затрат). У пациентов белой расы - носителей генотипа CC (т.е. гомозиготы по аллели С) регистрируется 2-кратная разница (95%, ДИ 1,8–2,3) в частоте достижения СВО по сравнению с носителями генотипов СТ и ТТ полиморфизма rs12979860 гена ИЛ-28В. Подобная частота достижения СВО в зависимости от варианта генотипа данного полиморфизма человека выявлена как

у афроамериканцев, так и у американцев испанского происхождения. По данным исследования Abe H. (2011) был выявлен низкий уровень экспрессии ИЛ-28В в клетках печени у пациентов с генотипом ТТ rs8099917 по сравнению с генотипами TG и GG, что позволяет использовать в клинической практике Пег-ИФН-α в качестве дополнительной стимуляции данного гена при благоприятном генотипе ТТ.

В работе Мицур В.М. (2013) было рекомендовано обследование на полиморфизм единичных нуклеотидов (ПЕН 39738787C>T и SNP 39743165T>G гена ИЛ-28В перед началом противовирусного лечения всем пациентам с генотипом 1 ВГС в качестве прогностических факторов ответа на ПВТ и отмечена вероятность при «благоприятных» аллельных вариантах ожидать высокую эффективность лечения не только пегилированными, но и «стандартными» интерферонами. Отмечено, что частота распространения аллели С значительно меньше у больных моноинфицированных ВГС по сравнению с группой контроля (здоровые лица) той же этнической принадлежности. Это предполагает ассоциацию аллели С с более высокой частотой спонтанного клиренса ВГС (Ge D., et al., 2009). По данным Козиной А.Н. и соавтр., (2011) больным ХГС с наличием благоприятного генотипа полиморфизма rs12979860 гена ИЛ-28В возможно назначение как Пег-ИФН-α, так и Ст-ИФН-α с рибавирином, так как у данных пациентов высока вероятность достижения СВО; при этом частота СВО не различается у пациентов с неблагоприятными генотипами rs12979860, инфицированных 1-м генотипом ВГС, как на Ст-ИФН-α, так и на ПегИФН-α (41,7% и 40% соответственно), однако различается у пациентов, инфицированных 2-м и 3-м генотипами ВГС, в зависимости от вида полученной ПВТ (Пег-ИФН-α или Ст-ИФН-α).

По результатам проведенного отечественного исследования было установлено, что у больных ХГС отмечалась достаточно высокая частота регистрации «благоприятных» в прогностическом плане однонуклеотидных полиморфизмов rs12979860 CC (23,1%) и rs8099917 ТТ гена ИЛ-28В (50,9%); при этом у пациентов с 1 генотипом HCV полиморфизмы, не соответствующие

генотипу СС по rs12979860 гена ИЛ-28В, статистически значимо коррелировали с более высоким содержанием глюкозы венозной крови, а однонуклеотидные полиморфизмы, не принадлежащие к полиморфизму ТТ по rs8099917, достоверно ассоциировались с более выраженными лабораторными проявлениями синдрома холестаза и тенденцией к нарушению обмена азота; на фоне ПВТ Пег-ИФНа и рибавирином частота формирования СВО у пациентов с ХГС (генотип 1) и однонуклеотидных полиморфизмов СС по rs12979860 (82,4%) статистически значимо превышала эффективность лечения больных без данного полиморфизма (45,5%). При хронической HCV-инфекции (генотипы 2 и 3) СВО достоверно чаще (88,8%) наблюдался у пациентов, имеющих как полиморфизм гена ИЛ-28В СС rs12979860, так и ТТ по rs8099917 (Жданов К.В. и др., 2014).

Исходный уровень вирусной нагрузки РНК ВГС и стадия фиброза печени до начала ПВТ, также имеют значение в развитии СВО у пациентов как с благоприятным, так и с неблагоприятным вариантом полиморфизма rs12979860 гена ИЛ-28В. Это говорит о невысокой индивидуальной предсказательной значимости данного генетического предиктора, если использовать его изолированно, поскольку этот фактор модифицируется остальными характеристиками пациента. Eurich D. и соавт. (2012) выявили ассоциацию полиморфизма гена ИЛ-28В и развитием гепатоцеллюлярной карциномы, индуцированной ВГС, а также связь с альфа-фетопротеином при гепатокарциноме на фоне ХГС с прогрессированием фиброза у пациентов с HCV-инфекцией после трансплантации печени. В работе Булатовой И.А. и соавт. (2013) была выявлена взаимосвязь минорного аллеля Т гена ИЛ-28В (rs12979860) со степенью выраженности синдромов цитолиза и холестаза, маркерами фиброза и регенерации печени, а также с уровнем вирусемии, при этом преобладало сочетание неблагоприятных генотипов rs12979860 СТ и ТТ у 71,4 % больных с HCV-1; не было установлено статистически значимого отличия частоты встречаемости генотипов и аллелей гена ИЛ-28В (rs12979860) между группами здоровых индивидуумов и больных ХГС с различными генотипами вируса.

ПЕН в аллелях rs8099917 и rs12979860 гена ИЛ-28В оказывает существенное влияние на частоту достижения СВО и у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией (Rallón N.I. et al., 2010). Сочетание благоприятных генотипов, а именно СС полиморфизма rs12979860 и ТТ полиморфизма rs8099917 гена ИЛ-28В, согласно литературным данным тесно связаны с быстрой вирусной кинетикой в первые 12 недель лечения - наиболее важных положительных предикторах ответа на ПВТ и получением СВО у пациентов с ВГС/ВИЧ инфекцией (Labarga P. et al., 2011; Rallon N.I. et al., 2011). При хронической ВГС-инфекции и благоприятных генотипах ПЕН гена ИЛ-28В отмечается низкий базовый уровень индукции ИФН-индуцированных генов, однако при ПВТ отмечается выраженная индукция ИЛ-28В и, соответственно, ИФН-индуцированных генов, что проявляется высокой частотой СВО (Zobair M Younoss, et al., 2012). В исследовании Soriano V. et al. (2011) доля пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией, зараженных HCV-1, среди носителей генотипа СС была меньше, чем среди носителей СТ и ТТ rs12979860 (44% и 68%, соответственно); в то время как HCV-3 обнаруживался чаще у носителей генотипа СС, чем среди носителей СТ и ТТ (43% и 19%).

При оценке значения другого варианта полиморфизма, выявлена ассоциация аллели G полиморфизма rs8099917 гена ИЛ-28В с неэффективностью ПВТ у пациентов с моно-ВГС и ВГС/ВИЧ инфекциями (Aragicio E. et al., 2010; Rauch A. et al., 2010). Исследования у больных с ВГС и ВГС/ВИЧ инфекциями полиморфизма гена ИЛ-28В с анализом взаимосвязи генотипов ИЛ-28В с другими факторами, которые позволили бы выработать прогностические критерии ответа на лечение, малочисленны, фрагментарны и неоднозначны по результатам.

Таким образом, исследования полиморфизма генов у пациентов с ВГС-инфекцией имеют большое теоретическое и практическое значение, т.к. позволяют глубже понять патогенез инфекционного процесса и его исходы, а значит, выработать прогностические критерии ответа на лечение, что диктует необходимость дальнейших исследований в этом направлении, а расширение знаний об этих наследственных составляющих должно ускорить разработку новых терапевтических стратегий.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено в период 2000-2014 г.г. на клинической базе кафедры инфекционных болезней (зав. кафедрой – профессор, д-р мед. наук Фазылов В.Х.) ГБОУ ВПО Казанский государственный медицинский университет (КГМУ) на базе Республиканской клинической инфекционной больницы (РКИБ) им. А.Ф. Агафонова г. Казани (гл. врач - Саматов В.А.); диспансерное наблюдение за пациентами с клинико-лабораторным мониторингом и катamnестическими исследованиями проводились в Республиканском центре по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями МЗ Республики Татарстан (РЦПБ СПИД и ИЗ МЗ РТ) (гл. врач – канд. мед. наук Галиуллин Н.И.) при участии зав. отделением медико-социальной реабилитации, канд. мед. наук Бешимова А.Т. и на базе гепатологического кабинета амбулаторного консультативно - диагностического отделения РКИБ г. Казани (зав. - канд. мед. наук – Созинова Ю.М.). Отдельные фрагменты исследования выполнены при участии аспиранта кафедры инфекционных болезней КГМУ Гольц М.Л.

2.1. Общая клинико-лабораторная и морфологическая характеристика пациентов

Под наблюдением находилось 487 человека, из них 155 – с сочетанной инфекцией вирусом гепатита С (ВГС) и ВИЧ (основная группа), 70 – с моноинфекцией ВИЧ и 262 – с моноинфекцией ВГС (группы сравнения). В группу здоровых лиц (n=52) вошли обследованные без статистических различий данных от больных по полу и возрасту, давшие информированное согласие на обследование, и не имевших в анамнезе сведений о вирусных гепатитах другой этиологии или других заболеваний печени, не являющиеся часто болеющими лицами, с отсутствием у них признаков инфекционно-воспалительных, аутоиммунных и иммунодефицитных состояний; с исключением по результатам биохимических, серологических исследований гепатитов другой этиологии или других заболеваний печени. Исследование было нерандомизированным,

открытым, проводимым в условиях реальной клинической практики, поэтому в него включались пациенты, которые наблюдались в указанных медицинских учреждениях (большинство больных было включено в период 2006-2014 гг.).

Основные критерии исключения из исследования: выраженная сопутствующая патология (сердечно-сосудистая, эндокринной системы, почек, легких и т.д.), лица с аутоиммунными и другими хроническими декомпенсированными системными заболеваниями; пациенты с микст-гепатитами; с циррозом печени, а также имеющие степень фиброза больше F3 (по результатам фиброэластометрии по шкале METAVIR или биопсии), с 5 стадией ВИЧ-инфекции (терминальная); больные с алкогольной болезнью или принимающие алкоголь, психоактивные вещества (ПАВ); с нейтропенией <1500 кл/мкл, тромбоцитопенией <90 тыс. кл/мкл, низкой концентрацией гемоглобина для женщин - <120 г/л, для мужчин - <130 г/л. беременность и кормление грудью, мужчины, имеющие беременных половых партнеров.

Протокол клиническо-лабораторного обследования принят Республиканским Комитетом по этическим вопросам при МЗ Республики Татарстан (протокол №6).

Материалом для исследования явились результаты обследования и лечения пациентов с анализом медицинской документации: медицинские карты амбулаторных больных (учетная форма 025/у), медицинские карты стационарных больных (учетная форма 003/у), выписки с предшествующих этапов лечения, данные электронной базы «AIDSNET» РЦПБ СПИД и ИЗ МЗ РТ.

Как видно из таблицы 2.1, среди пациентов сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией преобладали мужчины (68,4%) в возрасте 31-40 ($33,2 \pm 0,71$) лет. Среди ВИЧ-моноинфицированных пациентов мужчины и женщины распределились по 44,3% и 55,7% соответственно, большинство в возрастной группе 31-40 лет, средний возраст составил $32,8 \pm 1,11$ лет. В группе ВГС-моноинфицированных пациентов 59,9% составили мужчины, в возрасте $34,8 \pm 1,01$ лет (основная возрастная группа - 31-40 лет). Преобладание в эпидемическом процессе лиц молодого возраста показано многими авторами (Антонова Т.В., 2005; Лиознов Д.А., 2010; Покровский В.В. и др., 2008).

Преобладание мужчин в группах сочетанной ВГС/ВИЧ инфекции и ВГС-моноинфекции связано с преимущественно парентеральным механизмом заражения в данных группах пациентов, поскольку мужчины чаще демонстрируют рискованное поведение в плане употребления ПАВ. Для ВИЧ-моноинфекции же более характерен половой путь инфицирования, связанный с поведенческим риском незащищенных половых контактов, поэтому соотношение мужчин и женщин в данной группе примерно равно.

Длительность инфицирования ВИЧ (с момента обнаружения антител к ВИЧ) табл. 2.2 у 63,87% пациентов с сочетанной инфекцией и у 92,86% моноинфицированных пациентов составила до 5 лет, при этом 28,57% исследованных этой группы были инфицированы менее одного года.

Таблица 2.2

Распределение пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией и ВИЧ-моноинфекцией в зависимости от длительности инфицирования ВИЧ

Длительность инфицирования	Сочетанная ВГС/ВИЧ- инфекция n=155		ВИЧ-моноинфекция n=70	
	абс.число	%	абс.число	%
<1 года	25	16,13	20	28,57
1-5 лет	74	47,74	45	64,29
5-10 лет	48	30,98	5	7,14
>10 лет	8	5,16	-	-

Пациенты с ВГС-моноинфекцией в большинстве были инфицированы сроком до 10 лет (88,17%), однако 11,83% пациентов имели срок инфицирования ВГС более 10 лет (см. табл. 2.3).

Таблица 2.3

Распределение пациентов ВГС-моноинфекцией в зависимости от длительности инфицирования ВГС

Длительность инфицирования	ВГС-моноинфицированные n=262	
	абс.число	%
<1 года	-	-
1-5 лет	132	50,38
5-10 лет	99	37,79
>10 лет	31	11,83

При эпидемиологическом анализе (табл. 2.4) выявлено, что в группе с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией преобладал инъекционный путь инфицирования (85,16%), вследствие употребления ПАВ; у 3,23% пациентов этой группы путь инфицирования не был установлен. В группе ВИЧ-моноинфекции преобладали пациенты с половым путем инфицирования (87,14%), у 2,86% эпидемиологический анамнез был не ясен. В группе ВГС-моноинфекции 66,8% пациентов имели парентеральный механизм инфицирования, однако у 33,21% пациентов не удалось выяснить путь инфицирования. По данным авторов (Еналеева Д.Ш., Фазылов В.Х., Созинов А.С., 2011) при ВГС-инфекции установить пути инфицирования не удается в 40% случаев.

Таблица 2.4

Эпидемиологический анамнез у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией, ВИЧ- и ВГС-моноинфекциями

Механизмы и пути передачи инфекции	Сочетанная ВГС/ВИЧ-инфекция n=155/100 абс.ч./%	ВИЧ-моноинфекция n=70/100 абс.ч./%	ВГС-моноинфекция n=262/100 абс.ч./%
1.Парентеральный -множественные инъекции, перативные вмешательства, гемотрансфузии, татуировки; -употребление ПАВ	- 132/85,16	- 7/10	142/54,2 33/12,6
2.Половой (множественные, беспорядочные, незащищенные половые связи).	18/11,61	61/87,14	-
3. Не установлен.	5/3,23	2/2,86	87/33,21

Исходная клиническая симптоматика пациентов представлена в табл. 2.5, 2.6, 2.7. Стадии ВИЧ-инфекции устанавливались в соответствии с классификацией ВИЧ-инфекции, утвержденной приказом Минздравсоцразвития РФ №166 от 17.03.2006 года. Пациенты разделились по стадиям (ст.) следующим образом: в группе сочетанной ВГС/ВИЧ инфекции – 3 – 80 (51,61%), 4А – 68 (43,87%), 4Б – 7 (4,52%); в группе ВИЧ-моноинфекции: 3 – 40 (57,14%), 4А – 25 (35,71%), 4Б – 3 (4,29%), 4В - 2 (2,86%). В группе сочетанной ВГС/ВИЧ инфекции чаще всего выявлялись признаки астеновегетативного синдрома (слабость, утомляемость)

особенно на 4А и 4Б ст. у 88,24% и 85,71% пациентов; синдром желудочно-кишечных дисфункций был представлен преимущественно жалобами на ухудшение аппетита, тяжесть и боль в правом подреберье, эпигастрии, вздутие живота, неустойчивый стул без патологических примесей (51,61%). При физикальном обследовании увеличение границ печени было выявлено у 34 (42,5%) исследованных на 3 ст., у 46 (67,65%) - на 4А ст. и у всех на 4Б ст.

Таблица 2.5

Исходные клинические проявления у пациентов с ВГС/ВИЧ-инфекцией в зависимости от стадии ВИЧ-инфекции

Клинические признаки	Пациенты с ВГС/ВИЧ 3 ст. (n=80) абс.ч./%	Пациенты с ВГС/ВИЧ 4А ст. (n=68) абс.ч./%	Пациенты с ВГС/ВИЧ 4Б ст. (n=7) абс.ч./%
Астеновегетативный синдром (слабость, утомляемость, снижение работоспособности, нарушение сна)	42/52,5	60/88,24	6/85,71
Синдром желудочно-кишечных дисфункций			
- ухудшение аппетита	33/41,25	41/60,29	6/85,71
- тяжесть, боль в эпигастрии	17/21,25	12/17,65	3/42,86
- изжога	7/8,75	8/11,76	2/28,57
- тошнота	4/5	5/7,35	1/14,29
- тяжесть, боль в правом подреберье	18/22,5	20/29,41	5/71,43
- вздутие живота	15/18,75	19/27,94	5/71,43
- неустойчивый стул	14/17,5	15/22,06	6/85,71
Увеличение границ печени по Курлову (8-9-7 см)			
- до 1 см	15/18,75	15/22,06	-
- от 1 до 3 см	19/23,75	30/ 44,12	6/85,71
- более 3 см	-	1/1,47	1/14,29
Увеличение границ селезенки (из под края подреберья)			
- до 2 см	1/3,23	1/1,47	2/28,57
- от 2 до 5 см	-	-	-
- от 5 до 7 см	-	-	-
Увеличение периферических лимфоузлов (>1 см, локтевой > 0,5 см, паховый >1,5 см)	4/5	10/14,71	1/14,29
Грибковые поражения слизистых оболочек (кандидоз)	-	10/14,71	5/71,43
Без клинических проявлений	40/50	-	-

У пациентов 4А и 4Б стадий кроме того, наблюдались проявления ВИЧ-инфекции в виде кандидозного поражения слизистых оболочек у 10 (14,71%) и 5 (71,43%) обследованных.

Основным клиническим признаком на всех стадиях у пациентов ВИЧ-моноинфекцией при первичной диагностике был астеновегетативный синдром у 19 (27,14%) обследованных. Увеличение границ печени и и синдром желудочно-

Таблица 2.6

Исходные клинические проявления у пациентов пациентов ВИЧ-моноинфекцией в зависимости от стадии ВИЧ-инфекции

Клинические признаки	Пациенты с ВИЧ 3 ст. (n=40) абс.ч./%	Пациенты с ВИЧ 4А ст. (n=25) абс.ч./%	Пациенты с ВИЧ 4Б ст. (n=3) абс.ч./%	Пациенты с ВИЧ 4В ст. (n=2) абс.ч./%
Астеновегетативный синдром (слабость, утомляемость, снижение работоспособности, нарушение сна)	5/12,5	10/40	2/66,67	2/100
Синдром желудочно- кишечных дисфункций				
- ухудшение аппетита	-	1/4	2/66,67	1/50
- тяжесть, боль в эпигастрии	-	1/4	2/66,67	1/50
- изжога	-	-	-	-
- тошнота	1/2,5	8/32	1/33,33	1/50
- тяжесть, боль в правом подреберье	-	-	-	-
-вздутие живота	2/5	2/8	-	-
-неустойчивый стул	2/5	3/12	1/33,3	1/50
Увеличение границ печени по Курлову (8-9-7 см)				
- до 1 см	1/2,5	2/8	2/66,67	1/50
- от 1 до 3 см	-	2/8	1/33,33	-
- более 3 см	-	-	-	-
Увеличение границ селезенки (из под края подреберья)				
- до 2 см	-	-	-	-
- от 2 до 5 см	-	-	-	-
- от 5 до 7 см	-	-	-	-
Увеличение периферических лимфоузлов (>1 см, локтевой > 0,5 см, паховый >1,5 см)	3/7,5	3/12	3/100	2/100
Грибковые поражения слизистых оболочек (кандидоз)	-	5/20	3/100	2/100
Без клинических проявлений	30/75	2/8	-	-

кишечных дисфункций в данной группе пациентов связаны с сопутствующей патологией – алкоголизм, хронические заболевания органов ЖКТ (гастрит, панкреатит, язвенная болезнь желудка, холецистит). У 5 (20%) пациентов 4А и у всех больных 4Б и 4В ст. наблюдались кандидозные поражения. Не имели клинических проявлений 40 (50%) пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией и 30 (75%) – ВИЧ-моноинфицированных (все в 3 ст.).

В группе ВГС-моноинфекции выявлялись - астеновегетативный синдром (43,13%), синдром желудочно-кишечных дисфункций (58,02%), физикальные изменения (увеличение границ печени) – у 49,62%, а 12,21% – не имели клинических проявлений.

Таблица 2.7

Исходные клинические проявления у пациентов ВГС-моноинфекцией

Клинические признаки	Пациенты ВГС-моно (n=262) абс.ч./%
Астеновегетативный синдром (слабость, утомляемость, снижение работоспособности, нарушение сна)	113/43,13
Синдром желудочно-кишечных дисфункций	
- ухудшение аппетита	22/8,40
- тяжесть, боль в эпигастрии	32/20,65
- изжога	23/8,78
- тошнота	20/7,63
- тяжесть, боль в правом подреберье	55/20,99
- вздутие живота	10/3,82
- неустойчивый стул	15/5,73
Увеличение границ печени по Курлову (8-9-7 см)	
- до 1 см	50/19,08
- от 1 до 3 см	67/25,57
- более 3 см	13/4,96
Увеличение границ селезенки (из под края подреберья)	
- до 2 см	7/2,67
- от 2 до 5 см	-
- от 5 до 7 см	-
Увеличение периферических лимфоузлов (>1 см, локтевой > 0,5 см, паховый >1,5 см)	10/3,82
Грибковые поражения слизистых оболочек (кандидоз)	-
Без клинических проявлений	32/12,21

Среди сопутствующих заболеваний, регистрируемых в группе сочетанной ВГС/ВИЧ инфекции (табл. 2.8) преобладали алкогольная и наркозависимость у 122 (78,71%), ЗППП (гонорея, сифилис, уrogenитальный хламидиоз, уреаплазмоз, микоплазмоз, бактериальный вагиноз, кондиломатоз) у 46 (29,68%), а также хронические заболевания желудочно-кишечного тракта (26,45%) - (хронический гастродуоденит, хронический холецистопанкреатит, ДЖВП, язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки) – независимо от стадии ВИЧ-инфекции.

Таблица 2.8

Распределение сопутствующей патологии среди пациентов ВГС/ВИЧ-инфекцией в зависимости от стадии ВИЧ-инфекции

Клинические признаки	Пациенты с ВГС/ВИЧ 3ст. (n=80) абс.ч./%	Пациенты с ВГС/ВИЧ 4Аст. (n=68) абс.ч./%	Пациенты с ВГС/ВИЧ 4Бст. (n=7) абс.ч./%
Желудочно-кишечного тракта (хронический гастродуоденит, хронический холецистопанкреатит, ДЖВП, язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки)	18/22,5	20/29,41	3/42,86
Бронхолегочной системы (ХОБЛ, бронхиальная астма)	6/7,5	6/8,82	5/71,43
Сердечно-сосудистой системы (артериальная гипертензия, врожденный порок сердца, варикозная болезнь вен нижних конечностей, тромбоз, ИБС)	10/12,5	5/7,35	3/42,86
Мочеполовой системы (хронический аднексит, хронический пиелонефрит, хронический цистит, хронический простатит)	12/15	8/11,76	5/71,43
ЗППП (гонорея, сифилис, хламидиоз, уреаплазмоз, микоплазмоз, бактериальный вагиноз, остроконечные кондиломы)	23/28,75	19/27,94	4/57,14
Нервно-психической сферы -ВСД, остеохондроз, ОНМК -зависимость от ПАВ (алкоголизм, наркомания)	3/3,75 65/81,25	3/4,41 52/76,47	2/28,57 5/71,43
ЛОР-органов (хронический синусит, хронический тонзиллит)	8/10	10/14,71	3/42,86
Аллергодерматозы (псориаз, аллергический дерматит, отрубевидный лишай, пиодермия, фурункулез)	5/6,25	12/17,65	6/85,71

У ВИЧ-моноинфицированных пациентов (табл. 2.9) также в структуре сопутствующей патологии чаще регистрировались алкогольная и наркозависимость, ЗППП на всех стадиях болезни, а заболевания желудочно-кишечного тракта преобладали в 4А - 4В ст.

Таблица 2.9

Распределение сопутствующей патологии среди пациентов ВИЧ-моноинфекцией
в зависимости от стадии заболевания

Клинические признаки	Пациенты с ВИЧ 3ст. (n=40) абс.ч./%	Пациенты с ВИЧ 4Аст. (n=25) абс.ч./%	Пациенты с ВИЧ 4Бст. (n=3) абс.ч./%	Пациенты с ВИЧ 4Вст. (n=2) абс.ч./%
Желудочно-кишечного тракта (хронический гастродуоденит, хронический холецистопанкреатит, ДЖВП, язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки)	5/12,5	10/40	2/66,7	2/100
Бронхолегочной системы (ХОБЛ, бронхиальная астма)	1/2,5	2/8	2/66,7	1/50
Сердечно-сосудистой системы (артериальная гипертензия, врожденный порок сердца, варикозная болезнь вен нижних конечностей, тромбоз, ИБС)	3/7,5	4/16	3/100	1/50
Мочеполовой системы (хронический аднексит, хронический пиелонефрит, хронический цистит, хронический простатит)	5/12,5	5/20	3/100	1/50
ЗППП (гонорея, сифилис, хламидиоз, уреаплазмоз, микоплазмоз, бактериальный вагиноз, остроконечные кондиломы)	14/35	5/20	1/33,3	1/50
Нервно-психической сферы -ВСД, остеохондроз, ОНМК -зависимость от ПАВ (алкоголизм, наркомания)	4/10 9/22,5	3/12 7/28	- 1/33,3	- 1/50
ЛОР-органов (хронический синусит, хронический тонзиллит)	3/7,5	5/20	2/66,7	-
Аллергодерматозы (псориаз, аллергический дерматит, отрубевидный лишай, пиодермия, фурункулез)	2/5	6/24	2/66,7	1/50

В структуре сопутствующей патологии группы моноинфекции ВГС (табл. 2.10) преобладали заболевания желудочно-кишечного тракта (27,86%), примерно с одинаковой частотой отмечались хроническая патология сердечно-сосудистой системы (4,96%), нервной (5,34%) и аллергодерматозы (5,73%).

Таблица 2.10

Распределение сопутствующей патологии среди пациентов ВГС-моноинфекцией

Клинические признаки	Пациенты ВГС-моно (n=262) абс.ч./%
Желудочно-кишечного тракта (хронический гастродуоденит, хронический холецистопанкреатит, ДЖВП, язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки)	73/27,86
Бронхолегочной системы (ХОБЛ, бронхиальная астма)	7/2,67
Сердечно-сосудистой системы (артериальная гипертензия, врожденный порок сердца, варикозная болезнь вен нижних конечностей, тромбоз, ИБС)	13/4,96
Мочеполовой системы (хронический аднексит, хронический пиелонефрит, хронический цистит, хронический простатит)	9/3,44
ЗППП (гонорея, сифилис, хламидиоз, уреаплазмоз, микоплазмоз, бактериальный вагиноз, остроконечные кондиломы)	4/1,53
Нервно-психической сферы	
-ВСД, остеохондроз, ОНМК	14/5,34
-зависимость от ПАВ (алкоголизм, наркомания)	8/3,05
ЛОР-органов (хронический синусит, хронический тонзиллит)	22/8,39
Аллергодерматозы (псориаз, аллергический дерматит, отрубевидный лишай, пиодермия, фурункулез)	15/5,73

В группе с сочетанной инфекцией пациенты в зависимости от уровня CD4+ клеток распределились примерно поровну с числом 350-500 кл/мкл и >500 кл/мкл (41% и 33%), наименьшее количество наблюдаемых было с количеством <200 кл/мкл – 1%. У моноинфицированных ВИЧ уровни CD4+ лимфоцитов составили <200 кл/мкл у 4%, 200-350 кл/мкл – 20%, 350-500 кл/мкл – у 34% и >500 кл/мкл – у 42% исследуемых.

При анализе распределения пациентов в зависимости от вирусной нагрузки ВИЧ (табл. 2.11) выявлено, как в группе ВГС/ВИЧ-инфекции, так и в группе моноинфекции ВИЧ пациентов с низкой (по 53,54% и 45,71%, соответственно) и средней вирусной нагрузкой было поровну (по 36,77% и 37,14%, соответственно), гораздо меньше было пациентов с высокой вирусной нагрузкой (9,68% и 17,14%, соответственно).

Распределение пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией и ВИЧ-моноинфекцией в зависимости от вирусной нагрузки РНК ВИЧ

РНК-ВИЧ (коп/мл)	Сочетанная ВГС/ВИЧ-инфекция (n=155)	ВИЧ-моноинфекция (n=70)
<10000	83/53,54	32/45,71
10000-100000	57/36,77	26/37,14
>100000	15/9,68	12/17,14
Всего абс.ч./% случаев	155/100	70/100

При анализе уровней РНК ВГС в зависимости от числа CD4-клеток у ВГС/ВИЧ-инфицированных пациентов (без АРВТ, n=129) выявлено, что при уровнях Т-хелперов более 500 кл/мкл - 36,4% пациентов имеют высокую вирусную нагрузку ВГС.

Показатель воспалительной активности в печени (табл.2.12), представленный активностью фермента аланинаминотрансферазы (АлАТ), у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ и моноинфицированных ВИЧ (не получавшие АРВТ) составил в среднем - $84,58 \pm 4,66$ и $22,64 \pm 3,84$ ед/л, в третьей группе $75,44 \pm 5,77$ ед/л. Уровень АлАТ был достоверно выше в группе с сочетанной инфекцией по сравнению с показателями с моноинфицированных ВИЧ ($p < 0,01$) и ВГС ($p < 0,05$), с более высокими данными у мужчин по сравнению с женщинами по группам. Для установления пределов значений здоровых лиц нами было проведено тестирование здоровых добровольцев. Результаты показали достоверную разницу между значениями у мужчин и женщин ($27,5 \pm 1,7$ и $20,5 \pm 0,9$ ед/л соответственно, $p < 0,001$), что согласуется с литературными данными (Prati A. et al., 2002). У исследованных женского пола с моно-ВГС инфекцией данные АлАТ были достоверно ($p < 0,01$) выше, чем у пациенток с сочетанной инфекцией и ВИЧ-моноинфекций ($p < 0,001$); возможно это было связано с сопутствующим заболеванием – стеатогепатит, связанный с ожирением (ИМТ > 25 кг/м² определялся у 33,5% обследованных женского пола с ХГС).

Показатели уровня АлАТ в зависимости от пола у пациентов ВГС/ВИЧ, ВИЧ и ВГС-инфекциями

Уровень АлАТ	Здоровые (n=32)	Пациенты ВГС/ВИЧ (n=129) абс.ч./%	Пациенты ВИЧ-моно (n=58) абс.ч./%	Пациенты ВГС-моно (n=262) абс.ч./%
Средний (M±m), ед/л	23,19±9,93	84,58±4,66	22,64±3,8	75,44±5,77
Мужчины (M±m), ед/л	27,5±1,7***	81,58±5,17***	34,18±3,16***	77,68±6,16**
Женщины (M±m), ед/л	20,5±0,9	47,13±4,19	14,15±2,3	64,12±3,46

Анализ воспалительного процесса в печени у пациентов сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией и ВГС-моноинфекцией в зависимости от ВН РНК ВГС представлен в таблицах (2.13, 2.14): в группе с сочетанной инфекцией преобладали пациенты с высокой вирусной нагрузкой ВГС (76,13%), с уровнем АлАТ от 3N до 5N. В немногочисленной же группе пациентов с низкой ВН РНК ВГС (23,87%) чаще выявлялись показатели АлАТ до 3N (54,05%). В группе ВГС-моноинфекции пациенты распределились примерно поровну по уровню вирусной нагрузки ВГС (51,91% и 48,01%, соответственно). Однако, как в группе сочетанной инфекции так и у пациентов с ВГС-моноинфекцией при низкой виремии уровни АлАТ чаще регистрировались до 3N (25,95%), в группе с высокой виремией – от 3N до 5N (20,99%). Показатели АлАТ более 5N выявлялись в 27,1% случаев в группе сочетанной ВГС/ВИЧ инфекции и у 28,23% пациентов группы ВГС-моноинфекции. Эти данные совпадают с результатами ранее проведенных исследований (Еналеева Д.Ш., Фазылов В.Х., 2006; Dries V. et al., 1999; Jamal M.M. et al., 1999), показывающих, что уровень виремии ВГС довольно близко совпадает с уровнями АлАТ. В работе Д.Ш. Еналеевой с соавт., 2006, показано, что чаще всего у больных регистрируются уровни АлАТ до 3N, показатели более 5N встречались в 11,9% случаев. Более высокая вирусная нагрузка ВГС у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией по сравнению с ВГС-моноинфицированными в нашем исследовании также совпадает с литературными данными по взаимному влиянию вирусов (Макарова И.В., 2011; Netski D.M., 2007).

Таблица 2.13

Показатели АЛАТ пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией в зависимости от вирусной нагрузки ВГС (n=155)

Уровень АЛАТ, ед/л (N=23,19±9,93; n=32)	РНК ВГС (МЕ/мл)	
	<400000	>400000
<3N	20/54,05	28/23,73
3N-5N	8/21,62	57/48,31
>5N	9/24,32	33/27,97
Всего (абс.ч./%)	37/23,87	118/76,13

Таблица 2.14

Показатели АЛАТ у пациентов ВГС-моноинфекцией в зависимости от вирусной нагрузки ВГС (n=262)

Уровень АЛАТ ед/л (N=23,19±9,93; n=32)	РНК ВГС (МЕ/мл)	
	<400000	>400000
<3N	68/25,95	31/11,83
3N -5N	34/12,97	55/20,99
>5N	34/12,97	40/15,26
Всего (абс.ч./%)	136/51,91	126/48,01

Пациентам с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией и ВГС-моноинфекцией проводились морфологическое исследование и эластометрия печени. Результаты представлены в таблицах 2.15. и 2.16. В обеих группах преобладали пациенты со степенью фиброза F0 по METAVIR (64,2% и 68,75%, соответственно) по данным фибросканирования и пункционной биопсии (F0 – у 55,88% с ИГА 9-12 баллов – у 52,94% исследованных).

Таблица 2.15

Результаты морфологического исследования биоптатов
печени пациентов с ВГС-моноинфекцией

Показатель	(n=68) абс.ч./%
Фиброз по METAVIR	
0	38/55,88
1	25/36,76
2	4/5,88
3	1/1,47
4	-
Индекс гистологической активности (ИГА) (в баллах)	
0-3	1/1,47
4-8	27/39,71
9-12	36/52,94
>13	4/5,88

Таблица 2.16

Результаты эластометрии печени пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией и
ВГС-моноинфекцией

Фиброз по METAVIR	ВГС/ВИЧ (n=42) абс.ч./% (КРп, M±m)	ВГС (n=96) абс.ч./% (КРп, M±m)
0	27/64,2 (4,29±0,15)	66/68,75 (4,31±0,06)
1	7/16,7 (6,49±0,13)	15/15,63 (6,03±0,08)
2	6/14,3 (8,35±0,26)	10/10,42 (8,74±0,29)
3	2/4,8 (10,75±0,46)	5/5,21 (11,01±0,95)
4	-	-

Таким образом, пациенты, включенные в исследование, характеризуется молодым возрастом (31-40 лет), распределение по полу отражает эпидемиологию ВГС и ВИЧ-инфекции – преобладание мужчин в группах сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекции и ВГС-моноинфекции, связанное с преимущественно парентеральным механизмом заражения. В группе ВИЧ-моноинфекции, независимо от пола, преобладали пациенты с половым путем инфицирования. Клиническая картина пациентов с ВИЧ-инфекцией представлена в основном астеновегетативным и диспепсическим синдромом, особенно на 4А-4В ст.; в структуре сопутствующей патологии заметную роль играют ЗППП, наркозависимость, хронические заболевания ЖКТ независимо от стадии болезни. Большинство пациентов с

сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией имели уровни АлАТ от 3 до 5 норм (с достоверно более высоким уровнем у мужчин по сравнению с данными у женщин) и высокую нагрузку РНК ВГС в ПЦР. Преобладали исследуемые с низкой или средней ВН РНК ВИЧ в группах ВИЧ-инфицированных. Данные морфологического исследования указывают на отсутствие у наблюдаемых степени фиброза больше F3 (по результатам пункционной биопсии печени или фиброэластометрии по шкале METAVIR).

2.2. Методы исследования

1. Клинико-эпидемиологическая диагностика ВИЧ- и ВГС-инфекций проводилась на основании санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.5.2826-10 «Профилактика ВИЧ-инфекции» в соответствии с постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 11 января 2011 года №1 «Об утверждении СП 3.1.5.2826-10 «Профилактика ВИЧ-инфекции»», санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.958-00 «Профилактика вирусных гепатитов. Общие требования к эпидемиологическому надзору за вирусными гепатитами», утвержденных МЗ РФ 1 января 2000 года, методических рекомендаций Минздравсоцразвития РФ "О проведении обследования на ВИЧ-инфекцию" от 06.08.2007 г. № 5950-РХ. Сопутствующая патология выявлялась на основании анамнестических данных, анализа амбулаторных карт и консультаций специалистов в соответствии с приказом МЗ от 8.11.2012 № 689н «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи взрослому населению при заболевании, вызываемом вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекции)».

2. Лабораторная диагностика:

а). Клинико-биохимические тесты выполнялись на базе лабораторий РЦПБ СПИД и ИЗ МЗ РТ (заведующая лабораторией общей клинической диагностики Семенова Л.В., заведующий лабораторией биохимии, д-р биол. наук Коксин В.П.).

б). Исследования периферической крови проводились на гематологическом анализаторе ВС – 3000 Plus (Mindray Co., LTD, Китай). Исследовалась скорость

оседания эритроцитов по методу Панченкова, проводилось морфологическое исследование форменных элементов крови с дифференциальным подсчётом лейкоцитарной формулы при окраске мазков крови по Романовскому. Кроме исследования лейкограммы, в группе, получавшей противовирусную терапию ХГС, изучалась характеристика морфофункционального состояния периферического звена системы лимфоцитов. Для этого определяли лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ), предложенный Я. Кальф-Калифом (1938). ЛИИ вычисляли по формуле: $ЛИИ = (2П + С) / [(Л + МОН) \cdot (Э + 1)]$, где П и С - палочко- и сегментоядерные нейтрофилы; Л - лимфоциты; МОН - моноциты; Э - эозинофилы.

в). Биохимические исследования проводились на автоматическом биохимическом анализаторе FURUNO CA-180 (FURUNO ELECTRIC CO., LTD, Япония) с использованием стандартизованных реагентов для определения активности ферментов аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, гаммаглутамилтранспептидазы, щелочной фосфатазы, общего белка, мочевины, креатинина, холестерина (ЗАО «ДИАКОН-ДС», Московская область), общего и прямого билирубина (AUDIT DIAGNOSTICS, Ирландия). Внутрिलाбораторный контроль качества осуществлялся с помощью мультикалибратора TruCal U, контрольных сывороток TruLab N («Норма») и TruLab P («Патология») (DiaSys Diagnostic systems GmbH, Германия).

г). Иммунный статус у пациентов изучали на базе иммунологической лаборатории РЦБ СПИД и ИЗ МЗ Республики Татарстан (заведующий лабораторией, д-р мед. наук Мустафин И.Г.). Фенотипирование лимфоцитов проводилось методом прямой реакции иммунофлуоресценции с моноклональными антителами (мкАТ) фирмы «Becton Dickinson» (США). Лизирование эритроцитов проводили раствором «FACS Lysing Solution» (Becton Dickinson, USA). Использовался BD Мультитест 6-цветный TBNK реагент (Becton Dickinson, USA), содержащий мкАТ CD3, CD4, CD8, CD16/56, CD19. Учет реакции иммунофлуоресценции проводили на проточном цито-флуориметре FACScanto II (Becton Dickinson, USA). Исследование показателей фагоцитоза проводили по

стандартной методике (К.А.Лебедев, И.Д.Понякина, 2003) с микроскопическим учетом результатов. Фагоцитарную активность лейкоцитов оценивали по способности клеток захватывать *St.-aureus*. При этом определяли фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН) - процент нейтрофилов, фагоцитировавших стафилококк; фагоцитарное число (ФЧ) - среднее число *St.aureus*, захваченных одним нейтрофилом. Функционально-метаболическая активность нейтрофилов определяли в тесте с нитросиним тетразолием (НСТ-тесте) в спонтанном и индуцированном вариантах по методу Р.Н. Рас et al. (1968) в модификации Виксмана М.Е. и Маянского А.Н. (1979). В индуцированном НСТ-тесте в качестве стимулятора применяли *Serratia marcescens*.

д). Определение уровня аутоантител в сыворотке крови – антинуклеарных, антимитохондриальных, антимикросомальных проводили методом иммунофлюоресценции на базе иммунологической лаборатории РЦПБ СПИД и ИЗ МЗ Республики Татарстан (заведующий лабораторией, д-р мед. наук Мустафин И.Г.).

е). Определение концентраций ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-10, ИФН γ , ФНО в сыворотке крови проводили в иммунологической лаборатории РЦПБ СПИД и ИЗ МЗ Республики Татарстан (заведующий лабораторией, д-р мед. наук Мустафин И.Г.) с использованием наборов реагентов ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург) и ЗАО "Вектор-Бест" (Новосибирск). В наборах использован «сэндвич»-вариант твердофазного иммуноферментного анализа. Измерение оптической плотности раствора в лунках и расчет концентраций цитокинов в исследуемых образцах выполнялись на микропланшетном фотометре Thermo Scientific Multiskan EX (США).

ж). Для определения однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) в локусах rs12979860 и rs8099917 гена ИЛ-28В применялся набор реагентов «АмплиСенс® Геноскрин-IL-28B FL» на базе ЦНИИ эпидемиологии г. Москва (заведующий лабораторией – д.м.н. Чуланов В.П.). Тестирование основано на выделении тотальной ДНК человека в мононуклеарах крови, с использованием метода ПЦР-ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов). Детекцию продуктов ПЦР проводили с помощью гель-электрофореза, достоверность

полученных данных подтверждена с помощью мелтинга (плавления) рестрикционных фрагментов.

з). Диагнозы ВИЧ-инфекция и ХГС подтверждались выявлением специфических маркеров инфицирования ВИЧ и ВГС. Выявление антител к ВИЧ (суммарные антитела) и ВГС (анти ВГС_{core}, NS_{3,4,5} IgM, IgG) проводилось методом ИФА с использованием наборов реагентов НПО "Диагностические системы" г. Н. Новгород. Спектр антител к антигенам ВИЧ: gp160, gp 110/120, gp 41 (env ВИЧ-1); p55, p 40, p24/25, p18 (gag ВИЧ-1); p68, p52, p34 (pol ВИЧ-1) определяли методом иммунного блота с использованием тест-систем «New LAV Blot I» производства BioRad (Франция) на базе серологической лаборатории РЦПБ СПИД и ИЗ МЗ РТ (заведующая лабораторией – Хабибуллина Г.И.).

и). Определение РНК ВГС (с генотипированием) и РНК ВИЧ в плазме периферической крови проводилось в лаборатории молекулярно-биологических исследований РЦПБ СПИД и ИЗ МЗ РТ (заведующий лабораторией – канд. биол. наук, врач I категории Герасимов В.В.) методом полимеразной цепной реакции с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени на анализаторах COBAS TaqMan 48 (Hoffman-La-Roche, Швейцария), Abbott m2000rt (Abbott Biosystems, США). Чувствительность качественного метода ПЦР для обнаружения РНК ВГС – 150 МЕ/мл, количественного – (15 -200) МЕ/мл; для определения РНК ВИЧ порог составил 150 коп/мл.

3. Инструментальная диагностика

а). Пункционная (чрескожная) биопсия печени с определением индекса гистологической активности (ИГА) по бальной системе Knodell и регистрацией фиброза (при консультативной помощи д-ра мед. наук, профессора КГМУ А.П.Киясова) проводилась у больных ХГС в условиях стационара (отделение вирусных гепатитов РКИБ им. А.Ф. Агафонова г. Казани, зав. отделением вр. высшей категории Подряднова Т.В.), с предварительным обследованием (клинический анализ крови с определением тромбоцитов, показателей свертывающей системы крови, группы крови, резус-фактора, RW, антител к ВИЧ) под контролем УЗИ.

б). При хроническом гепатите С, имеются существенные доказательства того, что неинвазивные методы в настоящее время могут быть использованы вместо биопсии печени для оценки тяжести заболевания печени до терапии на безопасном уровне предсказуемости (в большей степени определяя наличие цирроза или отсутствие фиброза), учитывая факторы, которые могут отрицательно повлиять на эффективность, такие как ожирение. Эластометрия печени с помощью аппарата «Фиброскан» (FibroScan) (EchoSens, Франция) (вр. функциональной диагностики – вр. высшей категории Миролюбова Л.Ю.). Эластичность мягких тканей вычисляется по формуле $E=3\rho V_s^2$, где V_s – это скорость эластических волн низкой частоты. При измерении эластичности в мягких тканях генерируются низкочастотные эластические волны, измеряется их скорость распространения, а затем по формуле рассчитывается эластичность. Принцип измерения эластичности печени на аппарате «Фиброскан» состоит в том, что используемый вибратор (генератор низкочастотных колебаний) создает в тканях низкочастотную волну умеренной амплитуды (50 Гц/1 мм). К вибратору присоединен ультразвуковой преобразователь (3,5 МГц), который располагается между вибратором и поверхностью кожи для оценки низкочастотной волны. Сравнение последовательных ультразвуковых сигналов позволяет регистрировать локальную деформацию тканей. Измерение проводится на правой доле печени по передней или срединной подмышечной линии в VI-VII межреберье. Пациент располагается в положении на спине с максимально отведенной правой рукой. Датчик аппарата устанавливается перпендикулярно поверхности кожи. Исследование проводится на участке печени, свободном от крупных сосудов на глубину не менее 6 см. Результат (эластичность печени) выражается в килопаскалях (кПа); стадия фиброза оценивается от 0 до 4 баллов по шкале METAVIR.

в). УЗ-исследование органов брюшной полости. Эхографическое сканирование проводилось по общепринятым методам в РЦПБ СПИД и ИЗ и в РКИБ им. А.Ф. Агафонова г. Казани (вр. функциональной диагностики – вр. высшей категории Миролюбова Л.Ю., Скребнева Л.В.). Оценивали размеры печени, эхоструктуру, перипортальные уплотнения, явления гепатоза и эхогенность

паренхимы, сосудистый рисунок; состояние желчного пузыря (размеры, форма стенки, содержимое); размеры, экоструктуру селезёнки и поджелудочной железы; диаметры V.portae и V.lienalis.

Критерии УЗ – диагностики ХГ:

- усиление перипортальной реакции в сочетании с повышением эхогенности паренхимы печени;
- за счет последнего изменения – ухудшение визуализации сосудистого рисунка в дистальных отделах;
- чаще имеет место увеличение размеров селезенки и v. lienalis в диаметре.

4. Статистические методы: математическая обработка статистических данных проводилась на персональном компьютере с помощью пакета программ Microsoft Excel 2007. Использовались параметрические методы оценки результатов: вычисление средней арифметической (M), средней ошибки средней арифметической (m). Оценка различия между сопоставляемыми группами по избранным критериям осуществлялась по t-критерию Стьюдента. Достоверность изменений признавалась при вероятности ошибки ($p \leq 0,05$). Качественные величины описывались частотой встречаемости (%). Проводился корреляционный анализ с использованием коэффициента линейной корреляции Пирсона (Гланц С., 1999). Таблицы и схемы выполнены в пакете программ Microsoft Excel 2007.

ГЛАВА 3. КЛЕТОЧНЫЙ ИММУННЫЙ И ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС ПАЦИЕНТОВ С СОЧЕТАННОЙ ВГС/ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ И ВИЧ- МОНОИНФЕКЦИЕЙ С ДИНАМИКОЙ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ ПРИ ЕСТЕСТВЕННОМ ТЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА

В группу естественного течения вошли 92 пациента, в том числе 43 с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией (основная группа) в возрасте $34,0 \pm 0,88$ лет и 49 с ВИЧ-моноинфекцией (группа сравнения) в возрасте $37,8 \pm 1,61$ лет. Длительность инфицирования ВИЧ в группе с сочетанной инфекцией составила $4,06 \pm 0,26$ лет, в группе моноинфекции – $3,85 \pm 0,16$ лет.

Исходные показатели пациентов представлены в таблице 3.17: в группе ВГС/ВИЧ-инфекции преобладали мужчины (81%), с низкой и средней вирусной нагрузкой РНК ВИЧ; уровень CD4 + лимфоцитов у большинства пациентов (77%) был более 350 клеток/мкл; уровни АлАТ у мужчин превышали гендерную норму более чем в 2,5 раза, у женщин были повышены до 2N; 40% пациентов имели 1a/1b генотип ВГС, 45% - 3a генотип, 15% - 2a генотип. Среди моноинфицированных пациентов ВИЧ распределение по полу было примерно равным, большинство имели среднюю и низкую ВН РНК ВИЧ и уровень CD4+клеток >350 /мкл у (80%); показатели АлАТ у мужчин были достоверно ($p < 0,05$) выше показателей женщин.

3.1. Сравнительная характеристика показателей иммунного (клеточного) статуса пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ и ВИЧ-моноинфекцией при естественном течении инфекционного процесса в динамике диспансерного наблюдения

Результаты исследования клеточного иммунного статуса пациентов в сравниваемых группах по сравнению со здоровыми при первичной диагностике (табл. 3.18) показали достоверно ($p < 0,01$) сниженное абсолютное число CD4+клеток, соответственно на 21% и 22,4%, относительных показателей – на 41,8% и 36,8%, соответственно ($p < 0,001$) при повышении CD8+клеток: достоверное ($p < 0,001$) повышение их числа у пациентов обеих групп

соответственно в 2,1 и 1,9 раза, относительных показателей на 70,7% и 55,1% соответственно ($p<0,001$). Уровень CD3+лимфоцитов (абс.ч) был достоверно ниже в группе пациентов с сочетанной инфекцией по сравнению с показателями здоровых ($p<0,01$) и второй группы ($p<0,05$). Данные NK-клеток (абс.ч. и %) у пациентов обеих групп исходно были ниже значений здоровых лиц с достоверной разницей ($p<0,01$) между показателями групп с сохранением этой тенденции и в периоде наблюдения. Абсолютные и относительные числа В-лимфоцитов сохранялись достоверно низкими в обеих группах на протяжении всего наблюдения.

Таблица 3.17

Исходные показатели пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией и ВИЧ-моноинфекцией при естественном течении инфекционного процесса

Характеристика пациентов	ВГС/ВИЧ-инфицированные n=43	ВИЧ-моноинфицированные n=49
Мужчины, n (%)	35 (81)	22 (45)
Женщины, n (%)	8 (19)	27 (55)
Возраст (годы, M±m)	34,0±0,88	37,8±1,61
Вирусная нагрузка РНК ВИЧ в ПЦР, n (%)		
- <10000 коп/мл	17 (40)	20 (41)
- 10000-100000 коп/мл	22 (51)	20 (41)
- >100000 коп/мл	4 (9)	9 (18)
Исходный уровень CD4+ клеток, n (%)		
- < 200/мкл	3 (8)	3 (6)
- 200-350/мкл	7 (15)	7 (14)
- 350-500/мкл	8 (18)	17 (35)
- >500/мкл	25 (59)	22 (45)
АЛТ (M±m), ед/л		
-средний (23,19±9,93)	72,00±7,13	46,79±11,50
-мужчины (27,5±1,7)	74,46±7,71 (n=35)	40,17±6,80(n=22)
-женщины (20,5±0,9)***	46,86±9,02**(n=8)	30,98±4,96*(n=27)
Вирусная нагрузка РНК ВГС в ПЦР, n (%)		
- <400000 МЕ/мл	7 (17)	-
- >400000 МЕ/мл	36 (83)	-
Генотип ВГС, n (%):		
- «1a/1b»	17 (40)	-
- «2a»	7 (15)	-
- «3a»	19 (45)	-

Примечание: * $p<0,05$; ** $p<0,01$, *** $p<0,001$ - сравнение показателей мужчин и женщин.

Таблица 3.18

Клеточные факторы иммунного статуса у пациентов с ВГС/ВИЧ и ВИЧ-моноинфицированных при естественном течении инфекционного процесса

Показатели здоровые (n=52)	Группы	Начало набл. 2	3 мес. набл. 3	6 мес. набл. 4	12 мес. набл. 5	24 мес. набл. 6	P
CD3+ (10 ⁹ /л) 1,62±0,02	1 n=43	1,45±0,09**	1,48±0,15**	1,50±0,11**	1,30±0,23***	1,10±0,19***	P ₂₋₆ <0,01
	2 n=49	1,68±0,10#	1,58±0,13#	1,61±0,13#	1,67±0,17#	1,48±0,12**	P ₂₋₆ <0,01
CD4+ (10 ⁹ /л) 0,76±0,04	1 n=43	0,60±0,05**	0,51±0,06**	0,40±0,04***	0,40±0,07***	0,32±0,05***##	P ₂₋₆ <0,01
	2 n=49	0,59±0,06**	0,52±0,05**	0,55±0,04**	0,53±0,05**	0,50±0,04**	
CD4+ (%) 42,59±1,14	1 n=43	24,8±1,55***	24,0±1,70***	21,6±1,80***##	22,8±2,13***	22,7±1,79***	
	2 n=49	26,9±1,55***	26,4±1,77***	26,3±1,40***	25,0±1,37***	26,0±1,54***	
CD8+ (10 ⁹ /л) 0,57±0,03	1 n=43	1,2±0,11***	1,0±0,09***	1,1±0,08***	0,9±0,16***	0,8±0,17***	P ₄₋₆ <0,01
	2 n=49	1,1±0,09***	1,0±0,11***	1,0±0,11***	1,2±0,12***	0,97±0,09***	P ₅₋₆ <0,01
CD8+ (%) 30,81±1,21	1 n=43	52,6±1,67***	53,8±1,71***	54,9±1,87***#	55,7±1,81***	57,4±3,97***##	
	2 n=49	47,8±1,89***	49,7±2,30***	48,4±1,62***	49,8±1,93***	46,8±2,09***	
ИРИ 1,49±0,1	1 n=43	0,53±0,04***	0,49±0,04***	0,44±0,05***##	0,44±0,06***	0,41±0,08***##	
	2 n=49	0,63±0,07***	0,57±0,05***	0,57±0,04***	0,53±0,04***	0,58±0,05***	
CD16+ (10 ⁹ /л) 0,265±0,02	1 n=33	0,13±0,04**	0,11±0,06**	0,14±0,04**	0,12±0,07**	0,10±0,08**	
	2 n=24	0,19±0,04*#	0,21±0,06*#	0,18±0,04*#	0,19±0,02*#	0,18 ±0,0*6##	
CD16+ (%) 14,41±1,14	1 n=33	9,88±1,19**	8,08±1,39**	10,01±1,18**	9,21±2,34**	7,20±2,06***	
	2 n=24	13,01±1,01*#	12,81±1,31*#	12,92±2,01*#	14,21±2,37*##	12,70±2,22*#	
В-1дф (10 ⁹ /л) 0,206±0,02	1 n=33	0,13±0,02**	0,11±0,04**	0,12±0,02**	0,07±0,01***	0,08±0,08**	
	2 n=24	0,14±0,04**	0,12±0,04**	0,12±0,04**	0,09±0,07**	0,09±0,03**	
В-1дф (%) 11,75±0,88	1 n=33	7,81±0,81*	7,21±0,21*	6,91±0,11*	6,79±0,74*	6,81±0,61*	
	2 n=24	7,98±0,61*	7,85±0,16*	7,06±0,46*	7,01±0,51*	7,01±0,21*	

Примечание: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 - значение достоверности по сравнению с показателями здоровых лиц; # p<0,05, ## p<0,01, ### p<0,001 - значение достоверности показателей между 2 группами. Пациенты с ВГС/ВИЧ - (группа 1), ВИЧ-моноинфицированные - (группа 2).

Отсюда, иммунорегуляторный индекс (ИРИ) был достоверно ($p<0,001$) ниже у пациентов обеих сравниваемых групп, соответственно в 2,8 и 2,4 раза; без различий между ними ($p>0,05$). Через 3 месяца наблюдения в обеих группах пациентов сохранялись описанные выше изменения клеточного иммунного статуса. На 6 месяцах наблюдения начинают выявляться различия данных между группами: сниженные относительные показатели CD4+клеток на 17,8% ($p<0,01$), повышенные на 11,8% относительные уровни CD8+клеток ($p<0,05$) и ИРИ на 22,8% ($p<0,01$) у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией по сравнению с ВИЧ-моноинфицированными. К 24 месяцам наблюдения клеточный иммунный статус пациентов обеих сравниваемых групп в динамике по сравнению с исходными данными характеризовался снижением CD3+клеток ($p<0,01$) на 24,2% и 11,9% соответственно, абсолютного числа CD4+клеток – на 50% ($p<0,01$) и 15,2% соответственно с достоверными ($p<0,01$) различиями между группами на фоне сохраняющихся повышенных показателей CD8+клеток – на 33,3% и 11,8% соответственно, достоверно более выраженной в основной группе ($p<0,01$). Значения ИРИ были на 29,3% выше у ВИЧ-моноинфицированных ($p<0,01$).

Анализ динамики Т-хелперов в зависимости от ВН РНК ВИЧ в основной группе (рис. 3.1) показал, что уровни CD4+клеток в группе с низкой ВН были закономерно более стабильны; исходные показатели этой группы лишь на 13% были ниже значений здоровых лиц ($p<0,01$), а к 3 годам наблюдения – в 2,1 раз ниже уровня здоровых ($p<0,001$). Исходные показатели группы со средней вирусемией на всех сроках наблюдения были ниже значений как здоровых лиц ($p<0,001$), так и группы с низкой вирусемией, отличаясь снижением числа CD4+-лимфоцитов в 1,3 раза ($p<0,01$) через 2 года наблюдения. К 3 годам наблюдения число CD4+-клеток у пациентов группы со средней вирусемией превысили показатели группы с низкой ВН в 1,3 раза ($p<0,01$), но не достигая уровня здоровых лиц. Высокая ВН сопровождалась значительным снижением числа CD4+-лимфоцитов – исходные показатели этой группы были в 2,7 раз ниже уровня здоровых ($p<0,001$), на сроке 24 месяца наблюдения уровни Т-хелперов – в 5 раз ниже значений здоровых лиц.

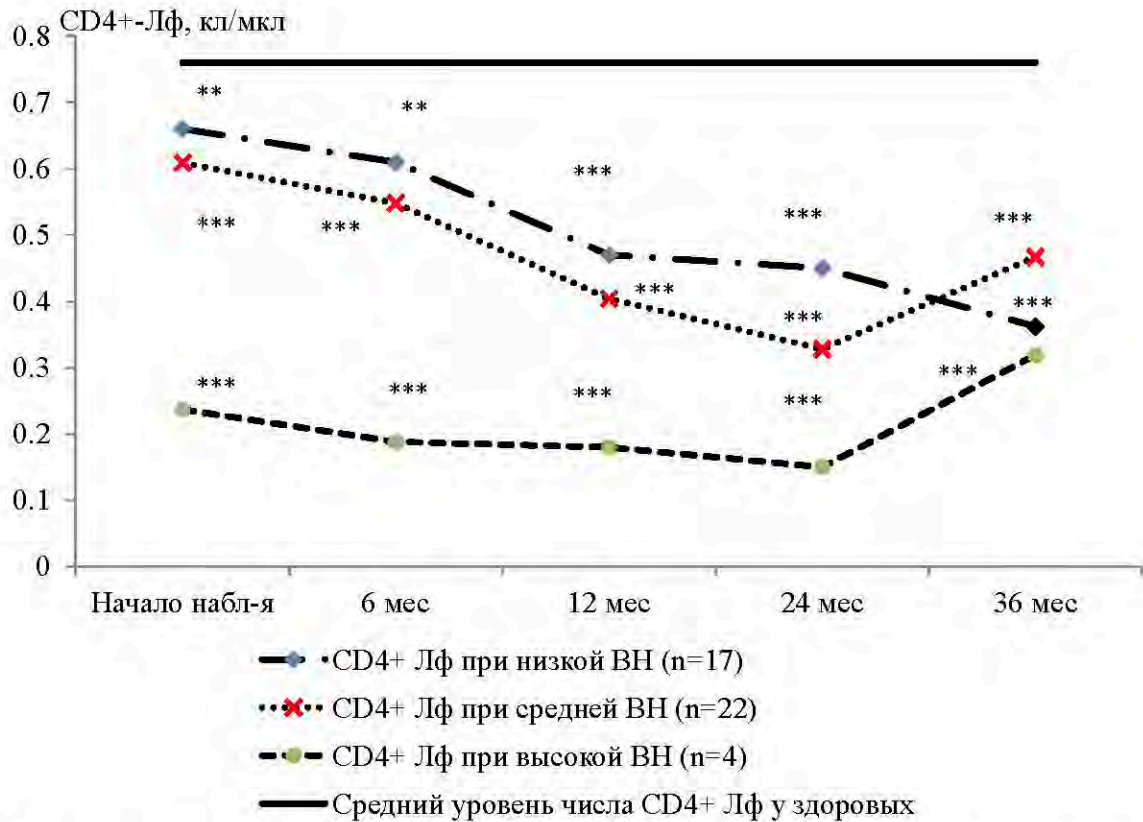


Рис. 3.1. Динамика CD4+клеток в зависимости от вирусной нагрузки (ВН) РНК ВИЧ в группе ВГС/ВИЧ инфекции (n=43)

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ - сравнение достоверности с показателями здоровых лиц.

Повышение CD4+клеток в группах с высокой и средней ВН через 3 года наблюдения связано с началом АРВТ у пациентов этих групп, тогда как в группе с низкой ВН пациенты не начинали лечение.

В группе сравнения (рис. 3.2) исходные показатели CD4+клеток у всех пациентов были ниже уровня здоровых: на 12% в группе с низкой вирусемией ($p < 0,01$), в 1,5 раза в группе со средней ($p < 0,001$) и в 1,6 раз в группе высокой вирусной нагрузки ($p < 0,001$). Через 3 года уровни CD4+клеток в группе с низкой вирусемией были на 21% ниже показателя здоровых ($p < 0,01$), в группах со средней и высокой ВН – в 1,7 и 1,5 раз ниже нормы, соответственно ($p < 0,001$). Повышение уровня Т-хелперов в группе ВИЧ-моноинфекции с высокой ВН с 12 мес. наблюдения связано с началом АРВТ у 40% пациентов этой группы. При сравнении

показателей выявлено достоверно ($p < 0,01$) более выраженное снижение CD4+клеток в динамике наблюдения в основной группе. В группе с низкой ВН ВИЧ различия были достоверны с 12 месяцев наблюдения, в группах средней и высокой ВН РНК ВИЧ – уже в начале наблюдения, и сохранялись в процессе наблюдения.

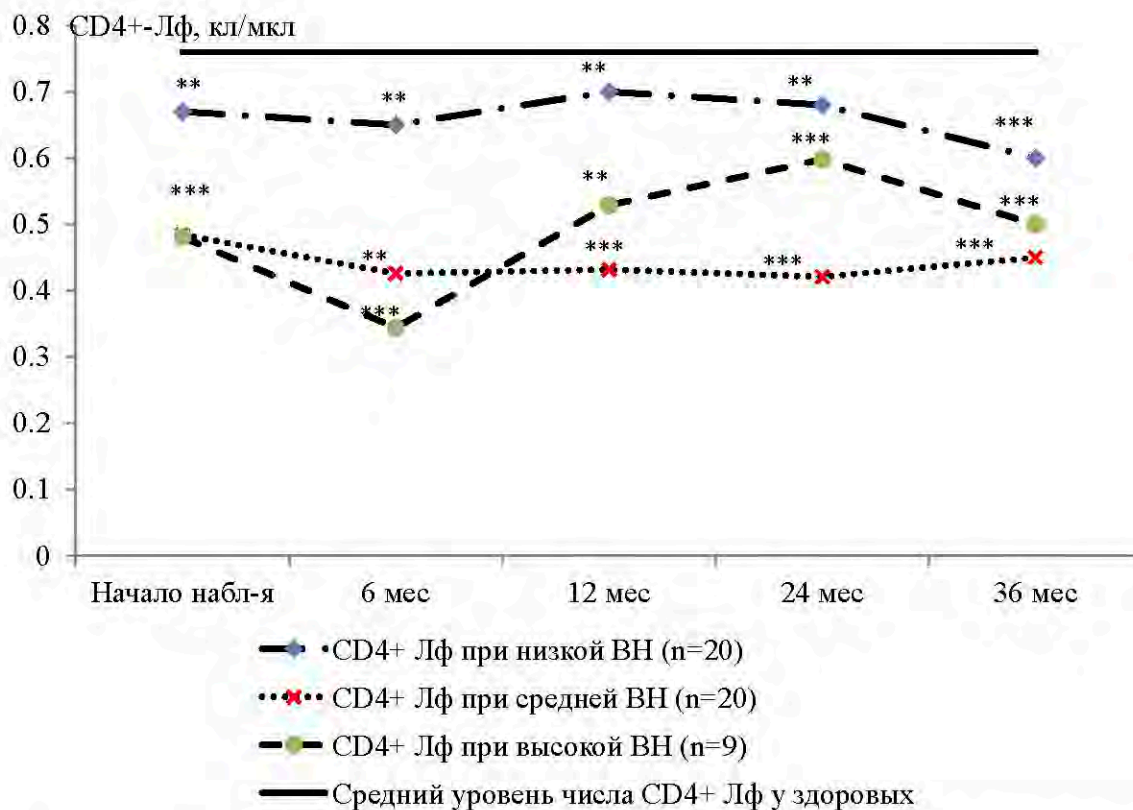


Рис. 3.2. Динамика CD4+клеток в зависимости от вирусной нагрузки (ВН) РНК ВИЧ в группе ВИЧ-моноинфекции (n=49)

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – сравнение достоверности с показателями здоровых лиц.

Таким образом, при естественном течении иммунный статус пациентов с ВГС/ВИЧ-инфекцией по сравнению с ВИЧ-моноинфекцией характеризовался достоверным снижением числа CD3+, CD4+, NK-клеток на фоне повышения CD8+клеток; в динамике наблюдения – прогрессирующим снижением CD4+клеток, более выраженным в группах со средней и высокой вирусемией ВИЧ.

3.2. Цитокиновый статус пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ и ВИЧ-инфекциями в зависимости от показателей активности инфекционного процесса ВИЧ-инфекции (уровня CD4+лимфоцитов и вирусной нагрузки)

Цитокиновый статус пациентов сравниваемых групп в зависимости от числа CD4+лимфоцитов (табл. 3.19) характеризовался при уровне >500 кл/мкл значительным повышением уровней ИЛ-1 β – в 3 раза у ВГС/ВИЧ-инфицированных и ВИЧ-моноинфицированных пациентов с достоверностью ($p<0,01$) по сравнению с показателем здоровых лиц; при числе CD4+ <500 кл/мкл уровень ИЛ-1 β был повышен у пациентов второй группы в 3 раза ($p<0,01$), тогда как у ВГС/ВИЧ-инфицированных уровень ИЛ-1 β сохранялся в пределах показателей здоровых лиц.

Таблица 3.19

Показатели цитокинового статуса пациентов исследуемых групп в зависимости от уровня CD4+клеток

Показатели пкг/мл	Здоровые n=25	CD4+ >500 кл/мкл		CD4+ <500 кл/мкл		Р
		ВГС/ВИЧ	ВИЧ-моно	ВГС/ВИЧ	ВИЧ-моно	
		n=19	n=18	n=13	n=12	
	1	2	3	4	5	
ИЛ-1 β	41,7 $\pm$ 16,4	126,75 $\pm$ 41,23**	129,73 $\pm$ 37,10**	42,12 $\pm$ 14,20	126,35 $\pm$ 42,59**	P ₄₋₅ $<0,01$
ИФН γ	35,7 $\pm$ 7,2	54,08 $\pm$ 21,05**	180,62 $\pm$ 67,48**	74,31 $\pm$ 12,48**	88,68 $\pm$ 17,03**	
ИЛ-10	13,1 $\pm$ 7,4	9,65 $\pm$ 2,13	20,32 $\pm$ 7,12*	13,05 $\pm$ 1,25	27,88 $\pm$ 12,67**	P _{2-3,4-5} $<0,01$
ИЛ-2	26,9 $\pm$ 8,8	31,88 $\pm$ 9,40**	35,41 $\pm$ 6,72**	31,38 $\pm$ 7,13*	33,03 $\pm$ 14,31*	

Примечание: * $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$ - в сравнении с показателями здоровых лиц

ИФН γ был повышен в группах с уровнем CD4 клеток >500 /мкл: в 1,5 раза у ВГС/ВИЧ инфицированных ($p<0,01$) и в 5 раз у ВИЧ-моноинфицированных пациентов ($p<0,01$); при <500 /мкл Т-хелперов в основной группе в 2,1 раз ($p<0,01$), в группе сравнения в 2,5 раза ($p<0,01$).

При исследовании ИЛ-10 было выявлено его достоверное повышение в группе ВИЧ-моноинфицированных пациентов независимо от уровня CD4+ клеток по сравнению с показателями здоровых, соответственно в 1,5 ($p<0,05$) и 2,1 раза

($p < 0,01$), с достоверными различиями между группами сравнения ($p > 0,01$).

Уровни ИЛ-2 были повышены соответственно в 1,2 ($p < 0,01$) и 1,3 раза ($p < 0,01$) в группах ВГС/ВИЧ-инфекции и ВИЧ-инфекции с уровнем $CD4^+$ клеток > 500 кл/мкл; в 1,2 ($p < 0,05$) и 1,5 раза ($p < 0,05$) – в группах с уровнем $CD4^+$ клеток < 500 в мкл, без достоверных различий между группами.

При исследовании цитокинового статуса в группах в зависимости от уровня ВН РНК ВИЧ получены следующие результаты (табл. 3.20). Уровни ИЛ-1 β повышались при низкой ВН - в 3 ($p < 0,01$) и 2,4 раза ($p < 0,01$) соответственно в группах ВГС/ВИЧ-инфекции и ВИЧ-моноинфекции; при средней ВН данный цитокин был повышен только в группе моноинфекции – в 3 раза ($p < 0,01$), в группах с высокой ВН ВИЧ его уровни достоверно снижались, в 109 ($p < 0,001$) и 260 ($p < 0,001$) раз соответственно, без значимых различий в группе моно- и сочетанной инфекции.

Концентрации ИФН γ были повышены в группе ВИЧ-моноинфекции в 4,2 раза ($p < 0,01$), в 1,9 раз ($p < 0,01$) и в 5,2 раза ($p < 0,01$) при низкой, средней и высокой ВН, соответственно. В группе ВГС/ВИЧ-инфекции повышение отмечалось только в группах со средней (в 1,8 раз ($p < 0,01$)) и высокой (в 3,3 раза ($p < 0,01$)) ВН.

При низкой и средней ВН ВИЧ уровни ИЛ-10 были достоверно выше у ВИЧ-моноинфицированных пациентов по сравнению с ВГС/ВИЧ-инфицированными, в 1,2 раза ($p < 0,05$) и 1,7 раз ($p < 0,01$) соответственно.

Показатели ИЛ-2 в группе моноинфекции ВИЧ были повышены в 1,24 раза ($p < 0,05$) при низкой, в 1,53 раза при средней ($p < 0,01$) и в 1,2 раза ($p < 0,05$) при высокой ВН ВИЧ; в первой группе пациентов его уровни достоверно повышались при повышении ВН ВИЧ – в 1,26 раз ($p < 0,01$) и 3,2 раза ($p < 0,05$) при средней и высокой ВН соответственно по сравнению с показателями здоровых лиц.

Показатели цитокинового статуса пациентов исследуемых групп в зависимости от уровня вирусной нагрузки (ВН) РНК-ВИЧ

Показатели пкг/мл	Здоровые	ВН<10 тыс коп/мл		ВН 10-100 тыс коп/мл		ВН>100 тыс коп/мл		Р
		ВГС/ВИЧ	ВИЧ-моно	ВГС/ВИЧ	ВИЧ-моно	ВГС/ВИЧ	ВИЧ-моно	
	n=25	n=12	n=12	n=16	n=13	n=4	n=5	
	1	2	3	4	5	6	7	
ИЛ-1 β	41,7 $\pm$ 16,4	127,99 $\pm$ 37,81**	100,25 $\pm$ 31,32**	39,89 $\pm$ 17,90	129,23 $\pm$ 53,73**	0,38 $\pm$ 0,18***	0,16 $\pm$ 0,01***	P _{3-5,7} <0,01 P _{2-6,2-3,4-6} <0,01
ИФН γ	35,7 $\pm$ 7,2	28,96 $\pm$ 11,07	151,66 $\pm$ 57,98**	63,63 $\pm$ 22,56**	70,18 $\pm$ 19,23**	119,60 $\pm$ 37,02**	184,75 $\pm$ 47,90**	P ₂₋₃ <0,01
ИЛ-10	13,1 $\pm$ 7,4	12,82 $\pm$ 4,72	15,15 $\pm$ 5,09*	10,70 $\pm$ 1,59	17,90 $\pm$ 2,22*	19,10 $\pm$ 10,57	68,27 $\pm$ 31,34*	P _{3-5,4-5} <0,01 P ₂₋₃ <0,05
ИЛ-2	26,9 $\pm$ 8,8	16,04 $\pm$ 2,19	33,54 $\pm$ 12,06*	33,94 $\pm$ 6,07**	41,39 $\pm$ 6,58**	86,67 $\pm$ 48,32*	33,13 $\pm$ 8,39*	P ₃₋₅ <0,01

Примечание: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 - в сравнении с показателями здоровых лиц

За время наблюдения в группе ВГС/ВИЧ инфекции 6 (14%) пациентов начали получать АРВТ: трое из них имели исходно высокую ВН РНК ВИЧ, два - среднюю, один - низкую. В группе сравнения на АРВТ перешли 3 (6%) пациентов, 2 с исходно высоким уровнем ВН ВИЧ.

Отдельно проанализированы данные трех пациентов в группе ВГС/ВИЧ инфекции с уровнем CD4+лимфоцитов <200 кл/мкл, все мужчины, в возрасте 37,0 $\pm$ 2,05 лет, со сроком инфицирования ВИЧ 7,7 $\pm$ 1,9 лет. По одному из пациентов имели низкую, среднюю и высокую ВН. При исследовании цитокинов два пациента с более длительными сроками инфицирования ВИЧ, низкой и средней ВН, имели крайне низкие уровни ИФН γ , уровни ИЛ-1 β и ИЛ-10 также были снижены. Пациент с высокой ВН имел наименьший срок инфицирования (<1 года), его цитокиновый профиль характеризовался высокими показателями ИФН γ , ИЛ-1 β ; уровни ИЛ-10 были снижены.

Таким образом, естественное течение сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекции сопровождается более ранним снижением CD3+клеток, более выраженным угнетением CD4+лимфоцитов и увеличением CD8+клеток по сравнению с

моноинфицированными пациентами. ВГС/ВИЧ инфекция сопровождается достоверно низким уровнем цитокинов как эндогенных иммуномодуляторов, выявляемым в данной группе при более высоких уровнях CD4+клеток и более низкой ВН ВИЧ, что выявляет глубокие нарушения в иммунной системе, наблюдаемые раньше в процессе прогрессирования заболевания. Снижение ИЛ-1 β , и ИЛ-10, более выраженное у моноинфицированных пациентов при сохранных уровнях CD4+лимфоцитов и невысокой ВН РНК ВИЧ, отражает переключение иммунного ответа на Th2-тип реагирования. Данные изменения сглаживались у пациентов с более глубокими нарушениями иммунитета, будучи, по-видимому, следствием недостатка резервных возможностей иммунной системы по мере прогрессирования заболевания.

3.3. Динамика клинических проявлений у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией и ВИЧ-моноинфекцией при естественном течении инфекционного процесса (с учетом АлАТ, вирусной нагрузки ВИЧ и числа CD4+ лимфоцитов)

Клиническая картина пациентов исследуемых групп в начале наблюдения представлена в таблице 3.21. Наиболее часто в обеих группах регистрировался астеновегетативный синдром (11,6% и 14,3%). В группе ВГС/ВИЧ-инфекции выражен был синдром желудочно-кишечных дисфункций (13,9%). У 2 (4,6%) ВГС/ВИЧ-инфицированных и 5 (10,2%) ВИЧ-моноинфицированных (все – на 4 стадии ВИЧ-инфекции) уже в начале наблюдения выявлены кандидозные поражения слизистых оболочек. Клинических проявлений не было у 31,2% ВГС/ВИЧ-инфицированных и 59,2% ВИЧ-моноинфицированных пациентов. Сопутствующая патология пациентов исследуемых групп представлена в главе 2. В обеих группах преобладали заболевания желудочно-кишечного тракта, ЗППП и зависимость от ПАВ.

Основные клинические проявления у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией, ВИЧ-моноинфекцией в группах естественного течения в начале наблюдения

Клинические признаки	Пациенты ВГС/ВИЧ (n=43) абс.ч./%	Пациенты ВИЧ-моно (n=49) абс.ч./%
Астеновегетативный синдром (слабость, утомляемость, снижение работоспособности, нарушение сна)	5/11,6	7/14,3
Синдром желудочно-кишечных дисфункций		
- ухудшение аппетита	6/13,9	2/3,7
- тяжесть, боль в эпигастрии	-	2/3,7
- изжога	2/4,6	-
- тошнота	1/2,3	-
- тяжесть, боль в правом подреберье	3/6,9	-
- вздутие живота	-	-
- неустойчивый стул	-	-
Увеличение границ печени по Курлову (8-9-7 см)		
- до 1 см	2/4,6	3/6,1
- от 1 до 3 см	7/16,3	2/3,7
- более 3 см	1/2,3	-
Увеличение границ селезенки (из под края подреберья)		
- до 2 см	1/2,3	-
- от 2 до 5 см	-	-
- от 5 до 7 см	-	-
Увеличение периферических лимфоузлов (>1 см, локтевой > 0,5 см, паховый >1,5 см)	-	5/11,1
Грибковые поражения слизистых оболочек (кандидоз)	2/4,6	5/10,2
Без клинических проявлений	13/31,2	29/59,2

В динамике наблюдения ранними (1-2 года) проявлениями прогрессирования ВИЧ-инфекции у пациентов с сочетанной инфекцией были развитие кандидоза слизистых оболочек (орофарингеального, урогенитального, эзофагеального) – у 14%; волосистой лейкоплакии языка (5%) и опоясывающего лишая (5%) – пациентов. У пациентов также диагностированы пневмоцистная пневмония (2,3%), саркома Капоши (2,3%), ВИЧ-энцефалопатия (2,3%).

В группе ВИЧ-моноинфекции также наиболее частым проявлением были микозы - у 8%, у 4% диагностированы остроконечные кондиломы. Клинические данные пациентов обобщены в таблице 3.22, рис. 3.3 и 3.4.

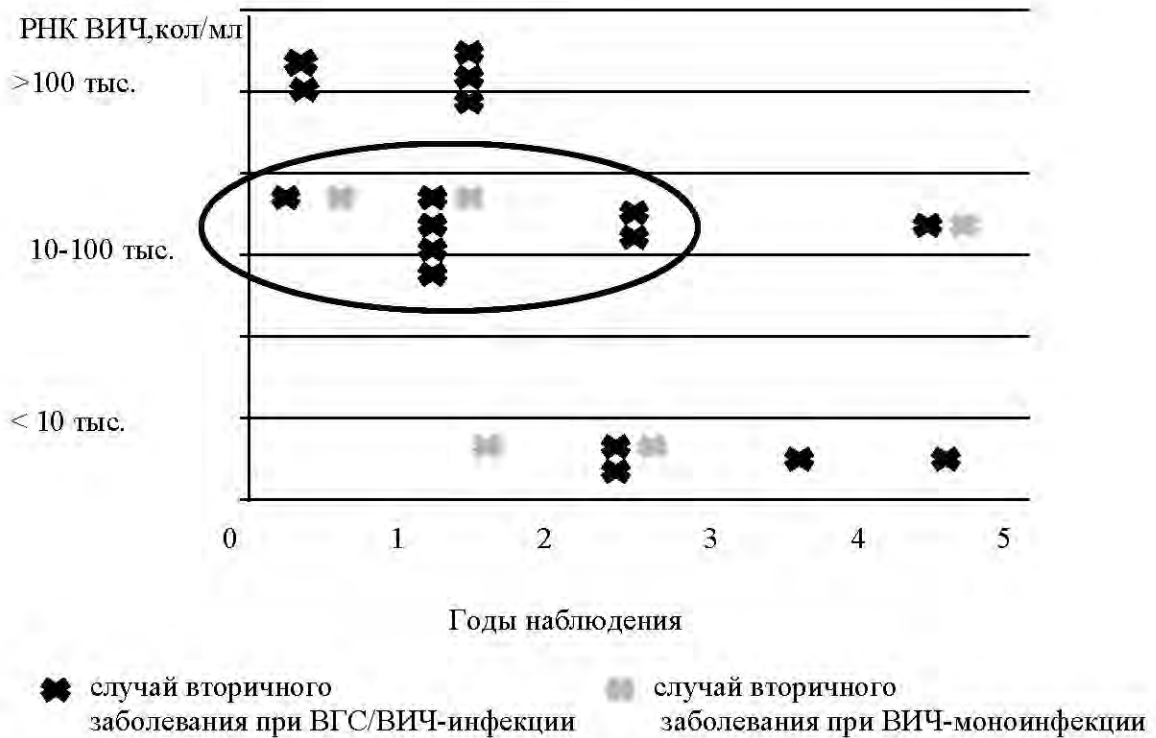


Рис. 3.3 Частота развития вторичных заболеваний у ВГС/ВИЧ-инфицированных и ВИЧ-моноинфицированных пациентов в динамике инфекционного процесса в зависимости от ВИЧ-вирусной нагрузки (n=112)

Сопоставляя частоту и характер клинических проявлений в группах можно сказать, что заболевание протекало менее агрессивно у моноинфицированных ВИЧ пациентов; с более ранним и частым развитием бактериальных и грибковых инфекций, ВИЧ-энцефалопатии, саркомы Капоши у ВГС/ВИЧ-инфицированных пациентов, особенно при низких уровнях CD4+лимфоцитов и высокой ВН РНК ВИЧ. Как и другие вирусы, вызывающие хроническую инфекцию, ВИЧ участвует в постоянной активации иммунной системы. (Brenchley J.M. et al., 2006; Hunt P.W. 2012; Jiang W. et al., 2009), HCV вызывает как иммунную активацию, так и

воспаление (Gonzalez V.D. et al., 2009). Хроническое воспаление, длительное подавление иммунитета и преждевременное иммунологическое старение у ВГС/ВИЧ-инфицированных пациентов (Appay V. et al., 2007; Tassiopoulos K. et al., 2012) являются причинами возникновения злокачественных опухолей (Grivennikov S.I. et al., 2010) и сосудистых заболеваний, а также в развитии вторичных заболеваний имеет значение нарушение цитокиновой регуляции с преобладанием провоспалительных цитокинов.

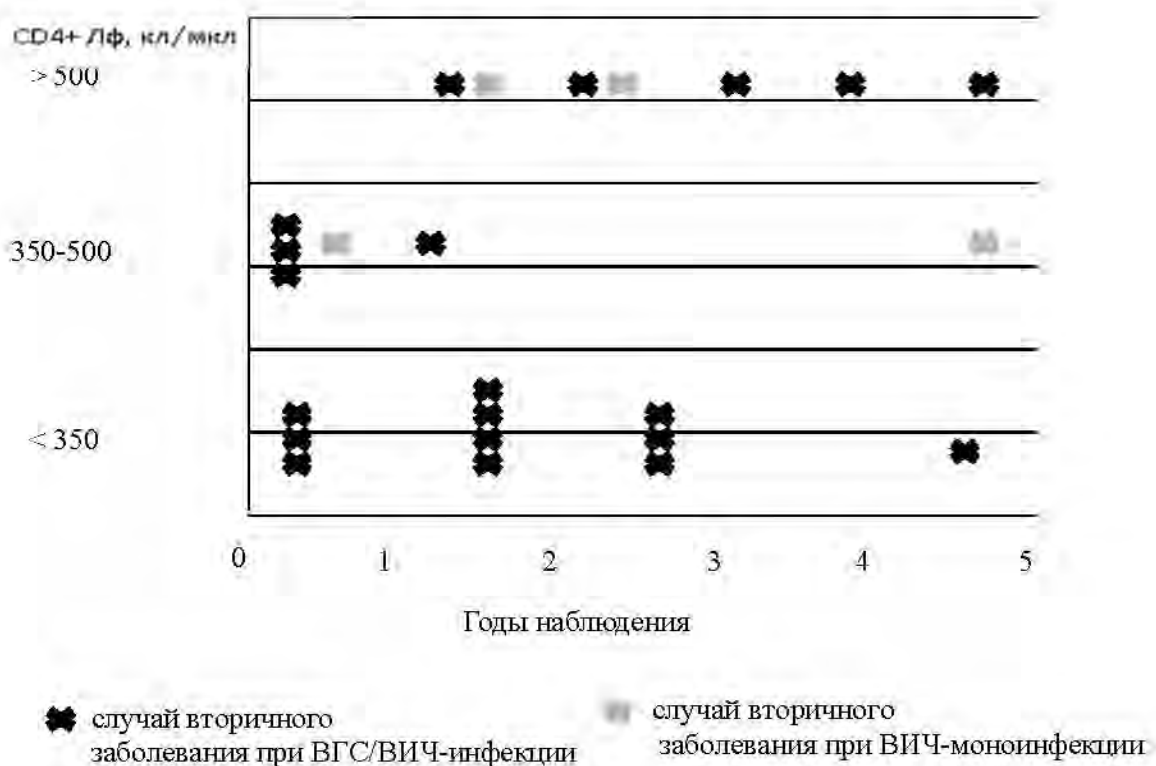


Рис. 3.4 Частота развития вторичных заболеваний у ВГС/ВИЧ-инфицированных и ВИЧ-моноинфицированных пациентов в динамике инфекционного процесса в зависимости от числа CD4+лимфоцитов (n=112)

Таблица 3.22

Частота развития вторичных заболеваний у ВГС/ВИЧ-инфицированных и ВИЧ-моноинфицированных пациентов в динамике инфекционного процесса (в зависимости от вирусной нагрузки (ВН) ВИЧ и числа CD4+лимфоцитов) (n=112)

Показатели	Группа	Исход. данные	Через 1 год	Через 2 года	Через 3 года	Через 4 года	Через 5 лет	Примечание
ВН<10 тыс. коп/мл	ВИЧ	1 ОКК)		1 (к)	1(ОКК)			3 случая
	ВГС/ВИЧ	1 (к)			1 (к) 1 (HZ)	1 (к)	1 (к)	5 случаев
ВН 10-100 тыс. коп/мл	ВИЧ	3 (к)	1(HZ)	1 (ОКК)			1 (к)	6 случаев
	ВГС/ВИЧ	1 (пио) (стр) 2 (фур) 2 (к)	1 (к)	1 (к) 2 (HZ) 1(ВЛЯ)	2 (к)		1(ПП)	14 случаев
ВН > 100 тыс. коп/мл	ВИЧ	1 (стр) 1 (к)						2 случая
	ВГС/ВИЧ		2 (к)	1 (ВЛЯ) 1 (СК) 1 (ЭП)				5 случаев
CD4+> 500 кл/мкл	ВИЧ	1 (к) (ОКК)		1 (к)	1(ОКК)			4 случая
	ВГС/ВИЧ	1 (к) 1(стр)		1 (HZ)	1 (к)	1 (к)	1 (к)	6 случаев
CD4+ 500-350 кл/мкл	ВИЧ	2 (к)	1(HZ)	1 (ОКК)			1 (к)	5 случаев
	ВГС/ВИЧ	1 (пио) 1 (к)		1 (к)				3 случая
CD4+ 350-200 кл/мкл	ВИЧ	1 (стр) 1 (к)						2 случая
	ВГС/ВИЧ	2 (фур) 2 (к)	2 (к)	2 (ВЛЯ) 1 (HZ)	2 (к) 1 (HZ)		1(ПП)	13 случаев
CD4+< 200 кл/мкл	ВИЧ							-
	ВГС/ВИЧ		1 (к)	1 (СК) 1 (ЭП)				3 случая
	Всего случаев:	13	4	9	5	1	3	

Примечание: к – кандидоз, ОКК – остроконечные кондиломы, пио – пиодермия, стр – стрептодермия, фур – фурункулез, HZ – herpes zoster, ВЛЯ – волосистая лейкоплакия языка, СК – саркома Капоши, ЭП – ВИЧ-энцефалопатия, ПП – пневмоцистная пневмония.

Далее приводится клинический случай естественного течения ВИЧ-инфекции при сочетании с ХГ смешанной этиологии (HBV+HCV+HDV). Пациент N. 29 лет, поступил на стационарное лечение в боксированное отделение №1 РКИБ

с жалобами на слабость, вялость, озноб, одышку, повышение температуры до 39°C, сильную головную боль - в течение 1 месяца. Начало заболевания - острое, с подъема температуры до 39°C и сохранением фебрильной лихорадки, самостоятельно принимал нестероидные противовоспалительные препараты, АРВТ не принимал. Эпид.анамнез: ВИЧ-инфекция с 2006 года (на момент поступления срок инфицирования - 5 лет), инфицирование вследствие употребления ПАВ (в/в героин), "Д" наблюдение в РЦПБ СПИД и ИЗ МЗ РТ нерегулярное; не отрицает употребление ПАВ по настоящее время. Хронический гепатит «В+С+D» диагностирован в 2006 г (ранее на маркеры ВГ не обследовался). Уровни CD4+Т-лимфоцитов - 0,360/мкл, ВН РНК-ВИЧ 53000 коп/мл (на момент поступления). При госпитализации состояние пациента N. расценивалось как тяжелое за счет кахексии (при росте 167 см имел вес 50 кг), интоксикационного синдрома (слабость, вялость, повышение температуры до 39°C). Кожа бледная; ногтевые пластины на нижних конечностях - неровные, бугристые, утолщены, крошатся. На слизистой ротовой полости, языка "творожистые наложения" белого цвета. Подмышечные, паховые лимфатические узлы увеличены размером до 2,0 см в диаметре, безболезненные при пальпации. Смещение влево верхушечного толчка и левой границы относительной тупости сердца, разлитой и усиленный верхушечный толчок. В паховой области справа - «воронкообразное» втяжение кожи после многочисленных инъекций ПАВ в бедренную вену. Печень увеличена на 3 см из под края реберной дуги, плотно-эластичной консистенции, поверхность ровная, край закруглен; селезенка +2 см из под края подреберья - плотно-эластичная, безболезненная при пальпации. При бактериологическом исследовании крови — выделен *Staph. aureus* (MRSA). Эхокардиографическое выявление вегетаций на створках клапанов. На рентгенограмме в грудной клетке - без очаговых изменений, усилен легочной рисунок; результаты бактериологического исследования мокроты на ВК - отрицательные. В соскобе со слизистой полости рта обнаружены грибки рода *Candida albicans*. Лечение сопутствующих заболеваний проводилось в соответствии с отечественными и международными рекомендациями, пациент выписан с клинико-лабораторным

улучшением, с рекомендациями о принятии решения назначения АРВТ и консультации кардиохирурга по оперативному вмешательству. Ds: ВИЧ-инфекция, стадия вторичных заболеваний (4А) в фазе прогрессирования без АРВТ. Сепсис, обусловленный *Staph. aureus* (MRSA), острый бактериальный эндокардит, кандидоз ротовой полости, опихомикоз, лимфаденопатия, гипохромная анемия тяжелой степени. Сопутствующая патология - ХГ смешанной этиологии (B+C+D) в фазе репликации (ДНК HBV+, РНК HCV+, РНК HDV+), умеренной воспалительной активности. Представленное клиническое наблюдение и наш анализ показывают возможность раннего развития жизнеугрожающих состояний у пациентов с сочетанной инфекцией при отсутствии ПВТ ХВГ.

В таблице 3.23 представлена динамика уровня АлАТ у пациентов в группе ВГС/ВИЧ-инфекции. При исследовании показателя АлАТ выявлено повышение уровней данного фермента и у мужчин и у женщин ВГС/ВИЧ-инфекцией на всех сроках наблюдения, с сохранением достоверных половых различий в динамике.

Таблица 3.23

Динамика АлАТ у ВГС/ВИЧ инфицированных пациентов при естественном течении инфекционного процесса

Показатель ед/л	Здоровые n=32	Начало набл-я	6 мес	12 мес	24 мес	36 мес	Р
	1	2	3	4	5	6	
АлАТ мужчины (n=35)	27,5±1,7	74,46± 7,71*	74,96± 15,16	87,84± 22,13	68,87± 17,01	75,69± 15,08	P ₁ - 2,3,4,5,6<0,05
АлАТ женщины (n=8)	20,5±0,9	46,86± 9,02***	32,82± 8,05**	32,55± 13,52**	52,10± 15,92*	29,45± 5,62***	P ₁ - 2,3,4,5,6<0,05

Примечание: *p<0,05; **p<0,01, ***p<0,001 - сравнение достоверности с показателями лиц другого пола.

Значения АлАТ у ВИЧ-моноинфицированных пациентов (табл.3.24) были в пределах значений здоровых лиц весь период наблюдения; половые различия показателя выявлены лишь в начале наблюдения и на сроке 24 месяца наблюдения (p<0,05).

Динамика АлАТ у ВИЧ-моноинфицированных пациентов при естественном течении инфекционного процесса

Показатель ед/л	Здоровые n=32	Начало набл-я	6 мес	12 мес	24 мес	36 мес	P
	1	2	3	4	5	6	
АлАТ мужчины (n=22)	27,5±1,7	40,17± 6,80	30,21± 4,38	27,62± 5,90	33,63± 6,39	27,03± 6,70	P ₁ - 2,3,4,5,6>0,05
АлАТ женщины (n=27)	20,5±0,9	30,98± 4,96*	31,93± 6,67	24,91± 4,68	17,02± 4,04*	26,30± 3,99	P ₁ - 2,3,4,5,6>0,05

Примечание: *p<0,05 - сравнение достоверности с показателями лиц другого пола.

На рисунке 3.5 представлена динамика АлАТ в группе ВГС/ВИЧ-инфицированных пациентов в зависимости от уровня вирусной нагрузки ВИЧ. Как видно из графика, во всех группах на всех сроках наблюдения показатели АлАТ были выше показателя здоровых. Исходные показатели в начале наблюдения в группе с низкой виремией были в 2,5 раза ($p<0,001$), средней – в 3,6 раз ($p<0,001$), высокой – на 14,3% выше средней нормы ($p<0,01$).

Исходные показатели в начале наблюдения в группе с низкой виремией были в 2,5 раза ($p<0,001$), средней – в 3,6 раз ($p<0,001$), высокой – на 14,3% выше уровня здоровых ($p<0,01$). Динамика АлАТ в группах была волнообразной, не достигая показателя здоровых лиц на всех сроках наблюдения. Так, к 36 мес. наблюдения в группе с исходно низкой виремией уровни АлАТ были в 3,1 раза ($p<0,01$), средней – в 2,5 раз ($p<0,01$), высокой – в 2 раза ($p<0,01$) выше уровня здоровых. Это может подтверждать данные о том, что сочетанная инфекция ВГС/ВИЧ сопровождается более высокими уровнями виремии ВГС, а соответственно и активности воспалительного процесса в печени (Макарова И.В., 2009; Hernandez M.D., Sherman K.E., 2011), причем данный эффект по-видимому не зависит от активности самой ВИЧ-инфекции и выявляется при различной виремии ВИЧ. В настоящее время известен факт сохранения активации иммунной системы и хронического воспаления, даже когда ВН РНК ВИЧ в плазме постоянно контролируется под влиянием АРВТ.

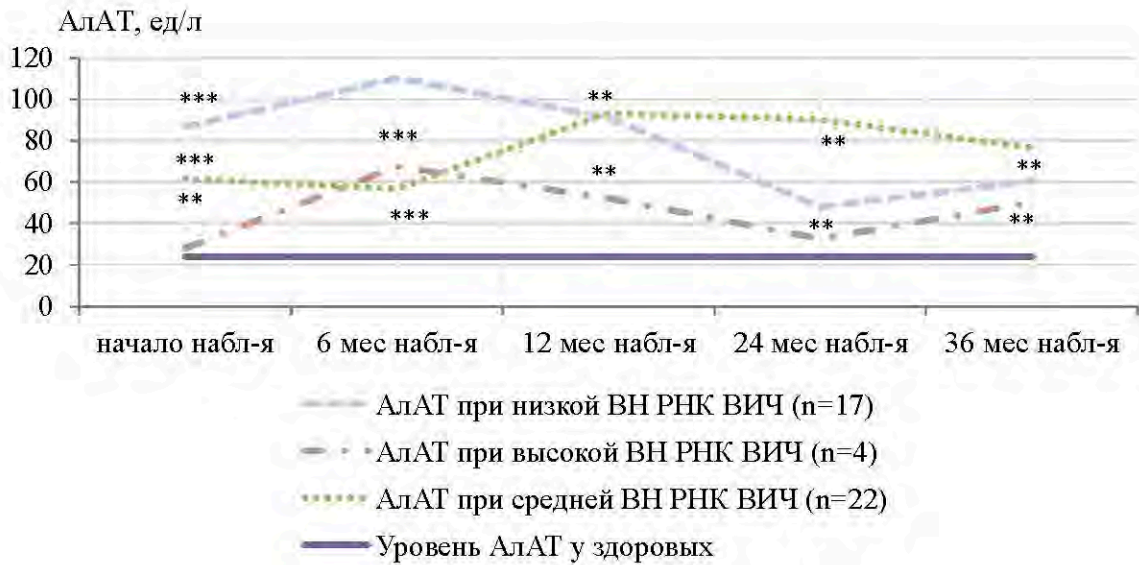


Рис. 3.5. Динамика АлАТ в зависимости от уровня вирусной нагрузки (ВН) РНК ВИЧ в группе ВГС/ВИЧ-инфекции

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ - сравнение достоверности с показателями здоровых лиц.

На графиках 3.6 и 3.7 представлена динамика ВН РНК ВИЧ параллельно с уровнем АлАТ в группах ВГС/ВИЧ-инфекции ($n=43$) и ВИЧ-моноинфекции ($n=49$). В основной группе у пациентов при стабильно низких уровнях виремии ВИЧ в первые 6 месяцев наблюдения уровни АлАТ возрастают, что может говорить об относительно сохранной реактивности организма и развитии выраженного воспалительного процесса в печени. В дальнейшем виремия нарастает, а уровни АлАТ снижаются, характеризуя компенсаторные возможности печени. При корреляционном анализе показателей на этих сроках (начало наблюдения, 6, 12 месяцев) выявляются недостоверные связи – $r = -0,27227$; $p > 0,05$; $r = -0,05642$; $p > 0,05$; $r = -0,03411$; $p > 0,05$ соответственно. С 24 месяцев наблюдения графики идут параллельно, что подтверждается и корреляционным анализом: выявлены достоверные обратные связи средней силы через 2 ($r = -0,46039$; $p = 0,02$) и 3 ($r = -0,35658$; $p = 0,019$) года наблюдения.

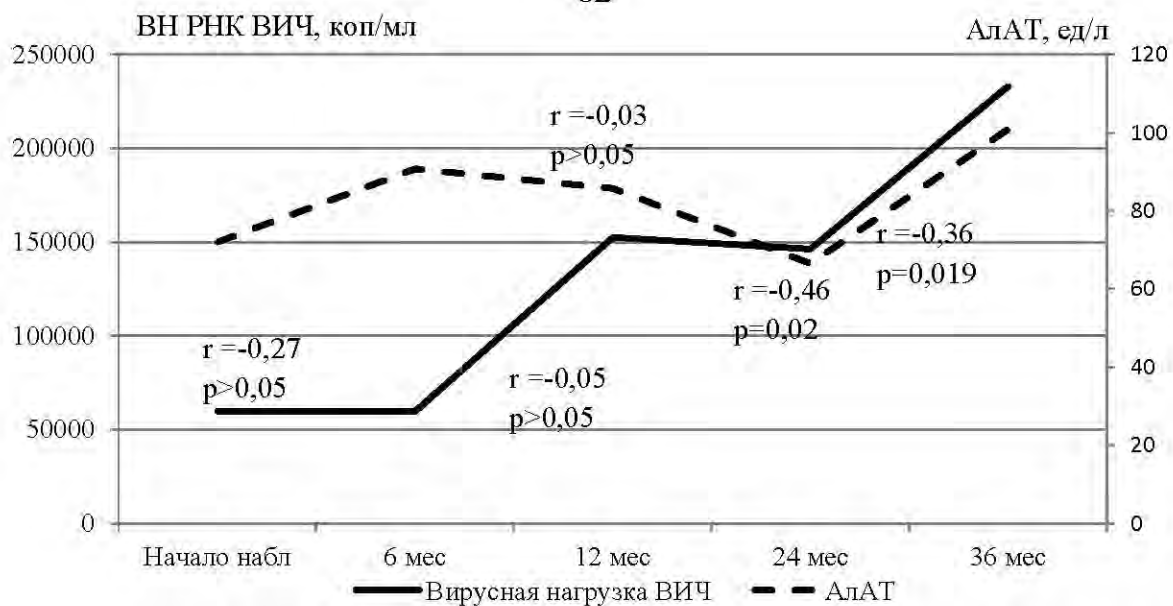


Рис. 3.6. Динамика вирусной нагрузки (ВН) РНК ВИЧ и уровней АлАТ в группе с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией (n=43)

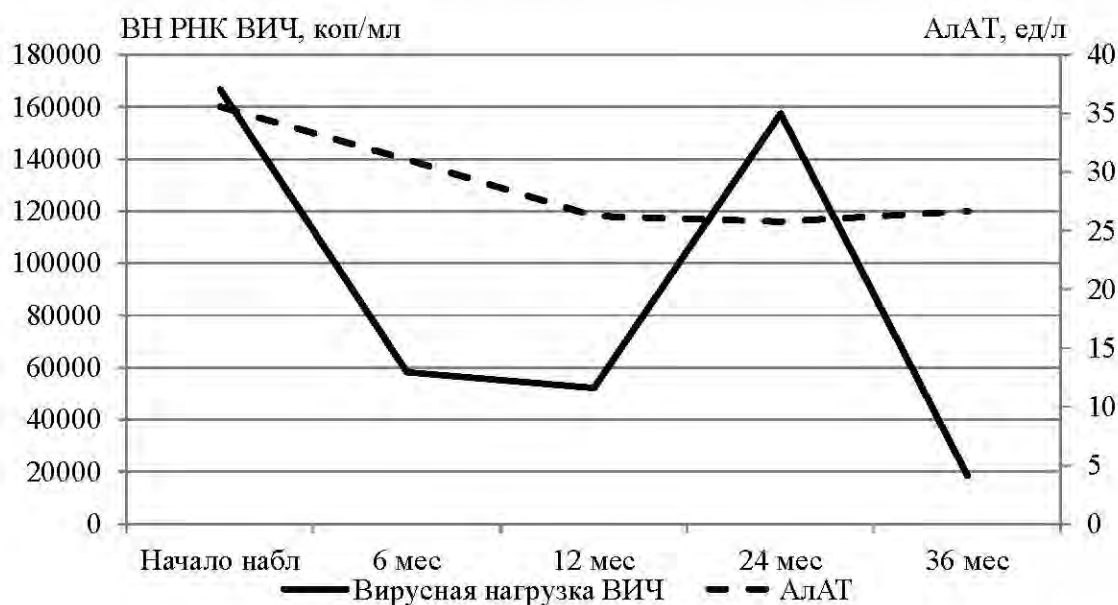


Рис. 3.7. Динамика вирусной нагрузки (ВН) РНК ВИЧ и уровней АлАТ в группе ВИЧ-моноинфекции (n=49)

Обратная зависимость между вирусемией ВИЧ и уровнями АлАТ, выявляемая на более поздних сроках наблюдения может объясняться естественным прогрессированием заболевания, нарастанием фибротических изменений в печени

и соответственно снижением цитолиза в условиях прогрессирующего снижения CD4+клеток (Khakoo S.I. et al., 2004; Thein H.H. et al., 2008; Tuyama A.C. et al., 2010). В группе ВИЧ-моноинфекции не выявлялось достоверной корреляции уровней АлАТ и колебаний ВИЧ-вирусной нагрузки.

Обобщая результаты, полученные в этой главе (рис. 3.8 и 3.9), следует отметить, что сочетанная ВГС/ВИЧ-инфекция сопровождается более выраженным по сравнению с данными моноинфицированных пациентов снижением уровней Т-хелперов в динамике наблюдения, отражая более быстрое прогрессирование иммуносупрессии при сочетанной инфекции. Низкая вирусная нагрузка ВИЧ характеризуется более высокими уровнями CD4+лимфоцитов, а в цитокиновом статусе – повышенными уровнями провоспалительного цитокина ИЛ-1 β и снижением Т-клеточного ростового фактора ИЛ-2. У пациентов со средней ВН уровни CD4+клеток были ниже, цитокиновый профиль характеризовался повышением как ИЛ-2, так и противовоспалительного ИФН γ . Высокая вирусная нагрузка, помимо наиболее выраженной иммуносупрессии отличалась также низкими уровнями ИЛ-1 β , повышением ИФН γ и ИЛ-2.

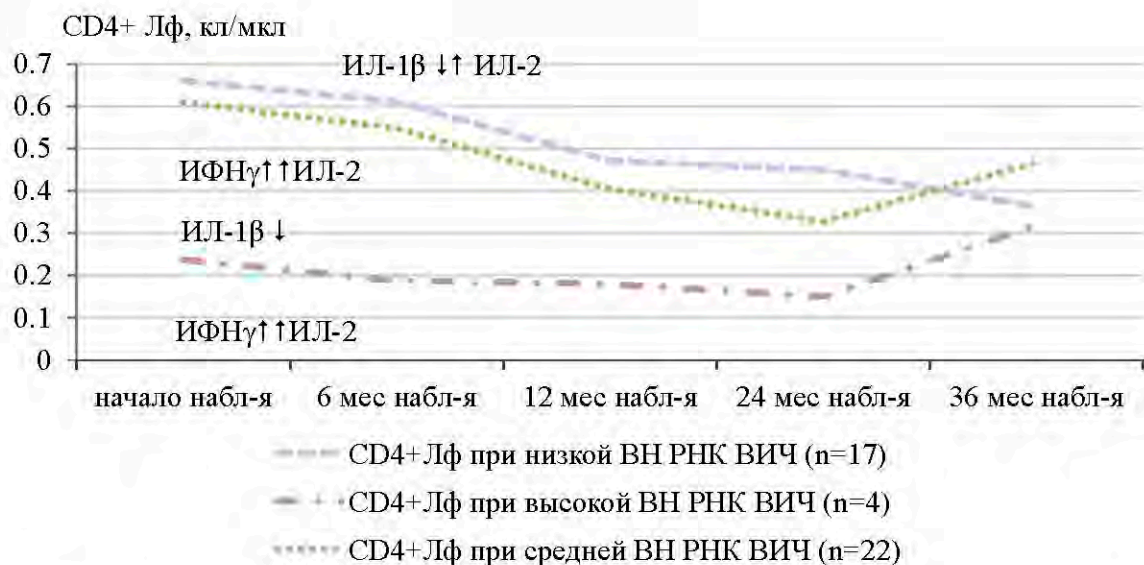


Рис. 3.8 Динамика числа CD4+клеток и уровня цитокинов в зависимости от вирусной нагрузки (ВН) РНК ВИЧ при ВГС/ВИЧ-инфекции

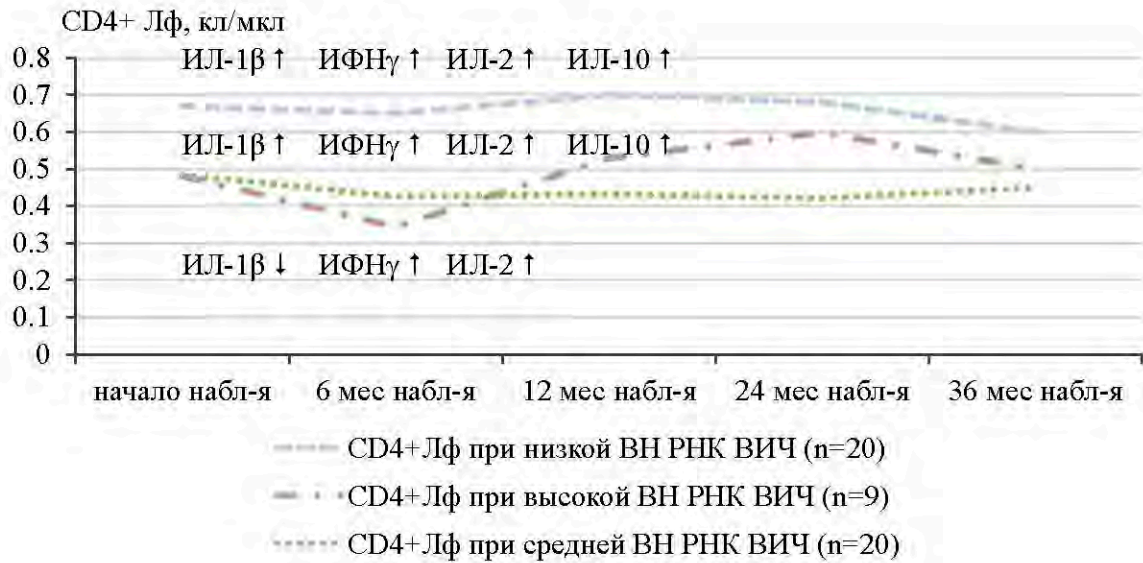


Рис. 3.9 Динамика числа CD4+клеток и уровня цитокинов в зависимости от вирусной нагрузки (ВН) РНК ВИЧ у пациентов с ВИЧ-моноинфекцией

В группе ВИЧ-моноинфекции, на фоне более высоких по сравнению с пациентами сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией уровней CD4+лимфоцитов, у пациентов с низкой и средней ВН были повышены концентрации всех исследуемых цитокинов; высокая ВН РНК ВИЧ характеризовалась снижением ИЛ-1β на фоне продолжающейся активации остальных цитокинов. Таким образом, снижение ИЛ-1β является ранним показателем прогрессирования иммуносупрессии как у моно-ВИЧ, так и у ВГС/ВИЧ-инфицированных пациентов. Прогрессирование ВГС/ВИЧ инфекции, кроме того, характеризуется нарастанием уровней ИФНγ и ИЛ-2.

3.4. Особенности клинико-иммунологического и цитокинового профиля на ранних сроках ВИЧ-инфекции при различных путях инфицирования

В процессе исследования выявлено, что наиболее яркие изменения цитокинового профиля наблюдались у пациентов с высокими уровнями CD4+клеток, низкой и средней вирусемией РНК ВИЧ. Как известно, инфекция на ранних сроках индуцирует наиболее мощные реакции со стороны иммунной системы. В нашем исследовании была выделена группа из 45 пациентов на ранних сроках

инфицирования ВИЧ - из них 20 ВИЧ-моноинфицированных (первая группа) и 25 (вторая группа) с сочетанной ВГС/ВИЧ инфекцией (табл. 3.25), группа здоровых составила 52 человека.

Длительность инфицирования пациентов ВИЧ в данных группах составила менее 1 года (иммуноблот становился положительным в среднем в течение $5,5 \pm 0,6$ мес.), HCV-инфекцией <10 лет, серологические маркеры HBV инфекции в ИФА не определялись. Первая группа - ВГС/ВИЧ-инфицированные – с инъекционным путем инфицирования ВИЧ, в анамнезе у всех употребление ПАВ (в/в героин); вторая - ВИЧ-моноинфицированные с половым путем инфицирования, не являющиеся ПИН, без серологических маркеров ВГС в крови.

На момент постановки диагноза ВИЧ-инфекция в клинической картине у пациентов обеих групп преобладали ЗППП - (генитальный герпес, сифилис, гонорея, хламидиоз, кондиломатоз) - у 40% ВИЧ-инфицированных и 25% ВГС/ВИЧ-инфицированных ($p < 0,05$). В группе сочетанной инфекции у 20% пациентов выявлен алкоголизм; гнойно-воспалительные заболевания (тромбофлебит, абсцесс, пиодермия), наблюдались соответственно у 10% и 8% пациентов обеих групп. При этом 45% пациентов первой группы и 52% второй не имели каких-либо клинических проявлений. В течение 2 лет наблюдения ЗППП по-прежнему преобладали в клинической картине и составили 44% в группе моноинфицированных и 25% у пациентов первой группы ($p < 0,05$). Присоединение микозов наблюдалось у 20% пациентов первой и 4% второй группы ($p < 0,01$). Стоит отметить, что у 36% ВИЧ-моноинфицированных по-прежнему не было клинических проявлений. У пациентов с ВГС/ВИЧ-инфекцией помимо гнойно-воспалительных заболеваний (4%), тромбоцитопении (8%) развивались вторичные заболевания (саркома Капоши (4%) и ВИЧ-энцефалопатия (4%)), и через 2 года в этой группе не было ни одного исследованного без клинических проявлений; по два пациента каждой группы начали получать АРВТ. Все пациенты с клинико-лабораторными проявлениями тяжелых вторичных заболеваний имели исходно высокую вирусную нагрузку РНК ВИЧ и низкие уровни CD4+клеток (менее 250 кл./мкл).

Исходные показатели пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией и ВИЧ-моноинфекцией при естественном течении инфекционного процесса на ранних сроках заболевания

Характеристика пациентов	1 группа (n=25) ВГС/ВИЧ - инфицированные	2 группа (n=20) ВИЧ-инфицированные
Мужчины, n (%)	17 (70)	9 (44)
Женщины, n (%)	8 (30)	11 (56)
Возраст (годы, M±m)	34,50±1,9	37,88±1,8
Пути передачи	инъекционный	половой
Вирусная нагрузка РНК ВИЧ в ПЦР, n (%)		
<10000 коп/мл	8 (33)	8 (43)
10000-100000 коп/мл	12 (50)	12 (57)
>100000 коп/мл	5 (17)	-
Уровень CD4+ клеток, n (%)		
- 200-350/мкл	10 (40%)	2 (7%)
- 350-500/мкл	2 (10%)	6 (35%)
- >500/мкл	13 (50%)	12 (58%)
АлАТ (M±m), ед/л		
- мужчины	80,26±13,0 (n=17)	37,22±8,9 (n=9)
- женщины	64,73±8,8** (n=8)	27,75±6,11* (n=11)
Вирусная нагрузка РНК ВГС в ПЦР, n (%)		
<400000 МЕ/мл	11 (45%)	-
>400000 МЕ/мл	14 (55%)	-
Генотип ВГС, n (%):		
«1a/1b»	8 (33)	-
«2a»	4 (17)	-
«3a»	13 (50)	-

Примечание: *p<0, 05; **p<0, 01 - сравнение показателей мужчин и женщин.

Результаты исследования цитокинового и иммунного профиля представлены в табл. 3.26 и 3.27. В обеих группах наблюдались изменения иммунного статуса, выражающиеся в угнетении клеточного звена иммунитета (CD4+клеток) и повышении цитотоксических клеток. Однако в группе ВГС/ВИЧ-инфекции, по сравнению с ВИЧ-моноинфицированными, пациентов с исходным уровнем CD4+клеток 200-350/мкл было достоверно (40% и 7%, p<0,01) больше, а также у большинства (67%) ВГС/ВИЧ-инфицированных ВН РНК ВИЧ в ПЦР была выше 10000 коп/мл.

Таблица 3.26

Показатели иммунного статуса у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией и ВИЧ-моноинфекцией при естественном течении инфекционного процесса на ранних сроках инфицирования

Показатели здоровые (n=52)	Группы	Начало набл.	3 мес набл.	6 мес набл.	12 мес набл.		24 мес набл.	P
					2	5		
1	1 (n=25)	1,67±0,24	1,57±0,14**	1,42±0,22***	0,80±0,11***	1,03±0,25 ***	P _{2-4,5,6} <0,01	
	2 (n=20)	1,71±0,11	1,48±0,12***	1,62±0,15##	1,52±0,13***###	1,31±0,15 ***##		
CD4+ (10 ⁹ /л) 1,62±0,02	1 (n=25)	0,50±0,09***	0,45±0,06***	0,36±0,05***	0,25±0,05***	0,28±0,10 ***	P ₂₋₆ <0,01	
	2 (n=20)	0,58±0,48***	0,50±0,49***	0,55±0,49*** ##	0,52±0,55*** ##	0,41±0,62 ***##		
CD4+ (%) 42,59±1,14	1 (n=25)	23,10±2,43***	22,90±2,31***	20,62±2,09***	23,50±2,75 ***	19,00±2,12***		
	2 (n=20)	27,27±1,75***	25,95±1,97***	26,50±1,60***###	26,58±1,73 *###	26,86±1,91***##		
CD8+ (10 ⁹ /л) 0,57±0,03	1 (n=25)	1,10±0,20***	1,09±0,10***	1,01±0,09***	0,52±0,06***	0,73±0,13 ***	P _{4,5} <0,01	
	2 (n=20)	1,07±0,10***	0,97±0,11***	1,07±0,13***	1,27±0,13*** ##	1,10±0,26 *** ##		
CD8+(%) 30,81±1,21	1 (n=25)	53,70±2,89***	56,00±2,66***	59,50±2,31***	52,75±2,68 ***	57,50±3,42***		
	2 (n=20)	47,36±2,10***	49,80±2,73***	48,16±1,95***###	49,40±1,04***##	49,88±3,34***##		
ИРИ 1,49±0,1	1 (n=25)	0,45±0,12***	0,41±0,11***	0,36±0,04***	0,44±0,05***	0,38±0,10 ***	P _{2-4,6} <0,05	
	2 (n=20)	0,54±0,18***	0,52±0,19***	0,51±0,49*** ##	0,54±0,55***#	0,54±0,08 ***##		

Примечание: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,01 - сравнение достоверности с показателями здоровых лиц; # p<0,05, ## p<0,01, ###p<0,001 – сравнение достоверности показателей между 2 группами (группа 1 и группа 2).

При исследовании в среднем через $5,9 \pm 0,1$ месяцев от момента постановки диагноза ВИЧ-инфекция не отмечалось достоверных различий у моноинфицированных-ВИЧ и у пациентов с сочетанной инфекцией в значениях абсолютных показателей НК-клеток ($0,207 \pm 0,03$ и $0,206 \pm 0,03 \cdot 10^9/\text{л}$, $p > 0,05$) и относительных ($13,01 \pm 2,49$ и $12,51 \pm 2,01\%$, $p > 0,05$), В-Лф. ($0,148 \pm 0,02$ и $0,153 \pm 0,06 \cdot 10^9/\text{л}$, $p > 0,05$) и ($8,43 \pm 0,4$ и $9,08 \pm 1,08\%$, $p > 0,05$), соответственно; при достоверно ($p < 0,01$) низких уровнях значений в обеих группах по сравнению с уровнем здоровых. В обеих группах наблюдались изменения иммунного статуса, выражающиеся в угнетении клеточного звена иммунитета (CD4+клеток) и повышении цитотоксических клеток. Однако в группе ВГС/ВИЧ-инфекции, по сравнению с ВИЧ-моноинфицированными, пациентов с исходным уровнем CD4+клеток 200-350/мкл было достоверно (40% и 7%, $p < 0,01$) больше, а также у большинства (67%) ВГС/ВИЧ-инфицированных больных ВП РНК ВИЧ в ПЦР была выше 10000 коп/мл.

Таблица 3.27

Показатели цитокинового статуса у пациентов с сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекцией и ВИЧ-моноинфекцией при естественном течении инфекционного процесса на ранних сроках инфицирования

Показатели здоровых (пкг/мл) n=25	CD4+>500 кл/мкл		CD4+ -350-500 кл/мкл		CD4+ -200-350 кл/мкл		P
	ВГС/ВИЧ	ВИЧ- моно	ВГС/ВИЧ	ВИЧ- моно	ВГС/ВИЧ	ВИЧ- моно	
	n=13	n=12	n=2	n=6	n=10	n=2	
1	2	3	4	5	6	7	
ИЛ-1 β 41,7 $\pm$ 16,4	375,87 $\pm$ 115,86**	156,95 $\pm$ 37,85***	0,12 $\pm$ 0,037***	127,01 $\pm$ 68,3**	0,28 $\pm$ 0,1***	215,7 $\pm$ 92,4*	P _{2-3,2-4} <0,01 P _{2-5,7,3-5,7,4-5,7,6-5,7} <0,001
ИФН γ 35,7 $\pm$ 7,2	188,53 $\pm$ 97,26**	180,87 $\pm$ 75,72***	95,67 $\pm$ 53,6	149,96 $\pm$ 42,25***	150,2 $\pm$ 52,7**	71,68 $\pm$ 32,04*	P ₂₋₆ <0,01
ИЛ-10 13,1 $\pm$ 7,4	6,53 $\pm$ 1,35**	20,77 $\pm$ 8,4*	10,04 $\pm$ 5,54*	43,13 $\pm$ 5,18*	23,83 $\pm$ 7,15**	23,94 $\pm$ 8,93**	P _{2-3,2-5,2-7} <0,001 P ₃₋₅ <0,01
ИЛ-2 26,9 $\pm$ 8,8	0,167 $\pm$ 0,04***	41,27 $\pm$ 3,4*	18,33 $\pm$ 8,98*	24,48 $\pm$ 13,08	79,74 $\pm$ 38,90	10,61 $\pm$ 7,47*	P _{2-3,3-4,3-5,3-6,3-7} <0,001

Примечание: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 - в сравнении с показателями здоровых лиц.

В нашем исследовании уже через шесть месяцев у обследованных в группе ВГС/ВИЧ-инфицированных наблюдались достоверно ($p < 0,01$ - $p < 0,001$) низкие показатели CD3+, CD4+ (абс.ч. и %), ИРИ и высокие уровни CD8+ лимфоцитов (%) по сравнению с данными у ВИЧ-моноинфицированных, с сохранением этой тенденции в динамике наблюдения. В целом изменения в цитокиновом профиле отражали переключение иммунного ответа на Th2-тип: повышение ИФН γ наблюдалось в обеих группах независимо от уровня CD4+клеток, также независимо от уровня CD4+клеток была повышена экспрессия ИЛ-10 в группе ВИЧ-моноинфекции, в группе ВГС/ВИЧ-инфекции увеличение концентраций этого цитокина определялось с уровня CD4+<350 кл./мкл. У ВИЧ-моноинфицированных наблюдалась повышенная экспрессия всех цитокинов независимо от числа CD4+клеток, исключением был ИЛ-2, который был низким при CD4+<350 кл./мкл. Дефицит ИЛ-2 нарастает с прогрессией заболевания и ассоциируется со снижением числа CD4+лимфоцитов и их хелперной активности. По нашему мнению, особенностью раннего инфицирования можно считать повышенные уровни ИФН γ при различных показателях CD4+лимфоцитов, а также сохраненные уровни ИЛ-2, что может отражать начальные, не глубокие изменения в регуляции иммунного ответа на начальных сроках инфицирования. У ВГС/ВИЧ-инфицированных пациентов наблюдалось увеличение синтеза провоспалительного цитокина ИЛ-1 β при сохраненных на уровне здоровых показателях CD4+клеток, но уже при уровне CD4+<500/мкл уровни данного цитокина были достоверно ($p < 0,001$) ниже по сравнению с ВИЧ-моноинфицированными и здоровыми. Повышенная продукция провоспалительных цитокинов привела к ускорению инфекционного процесса и возникновению гнойно-воспалительных заболеваний, саркомы Капоши и церебральных нарушений у пациентов с сочетанной инфекцией уже в первые 2 года наблюдения.

Таким образом, у ВГС/ВИЧ-инфицированных на раннем сроке инфицирования на фоне более выраженного угнетения клеточного иммунитета и повышенной вирусной нагрузки по сравнению с данными при ВИЧ-моноинфекции в клинической картине преобладали гнойно-воспалительные, грибковые

поражения и вторичные заболевания. У пациентов обеих групп, независимо от путей передачи, на ранних сроках инфицирования ВИЧ отмечается достоверное повышение ИФН γ и ИЛ-1 β ; при прогрессировании заболевания отмечается тенденция к снижению ИФН γ , значимое снижение ИЛ-1 β и нарастание уровней ИЛ-10 при снижении CD4+клеток и ИРИ. Сочетанная ВГС/ВИЧ-инфекция сопровождается более ранним снижением ИЛ-1 β на фоне выраженного угнетения клеточного звена иммунитета и увеличения цитотоксических клеток. Измерение уровней цитокинов в сыворотке крови может быть использовано для мониторинга активности и темпа прогрессирования заболевания с ранних сроков инфицирования ВИЧ.

3.5. Корреляционный анализ взаимосвязи цитокинов и показателей иммунного ответа при сочетанной ВГС/ВИЧ-инфекции, ВИЧ-моноинфекции с учетом активности инфекционного процесса

Проводился корреляционный анализ полученных данных по методу квадратов (Пирсона) с исследованием связей между уровнями CD4+клеток, ВН ВИЧ и концентрациями цитокинов в группах ВГС/ВИЧ-инфекции ($n=32$) и ВИЧ-моноинфекции ($n=30$) (табл. 3.28, 3.29, 3.30).

Получена достоверная средней силы обратная зависимость между уровнем РНК ВИЧ и CD4+лимфоцитов ($r=-0,38135$; $p<0,01$) в группе ВГС/ВИЧ-инфекции. У ВИЧ-моноинфицированных пациентов обратная связь средней силы между этими же показателями ($r=-0,275290047$; $p>0,05$) была недостоверна. Как видно из таблицы, практически во всех случаях связи были слабыми и недостоверными, лишь при исследовании зависимости концентраций ИЛ-10 от ВН РНК ВИЧ в группе моноинфекции получена прямая сильная достоверная связь. Таким образом, при повышении ВН возрастает уровень ИЛ-10. Поскольку данный цитокин является медиатором гуморального иммунного ответа, вероятно, данная зависимость отражает переключение на Th2-тип реагирования при высоком уровне репликации ВИЧ.

При исследовании корреляционных связей в группах, разделенных по уровню цитокинов на высокие, средние и низкие показатели были получены следующие данные: у ВГС/ВИЧ-инфицированных пациентов достоверная прямая связь средней силы низких уровней ИФН γ и уровня CD4+клеток ($r=0,524503$; $p<0,001$); высокие показатели ИЛ-10 имели сильную обратную связь с уровнем Т-хелперов ($r=-0,7169$; $p<0,001$) и сильную прямую связь с уровнем виремии ВИЧ ($r=0,700264$; $p<0,001$); высокие уровни ИЛ-2 имели достоверную обратную связь средней силы с уровнем вирусной нагрузки ВИЧ ($r=-0,38236$; $p<0,01$).

Таблица 3.28

Значения коэффициента корреляции Пирсона (r) при анализе уровней CD4+клеток, виремии ВИЧ и показателей цитокинов в группах ВГС/ВИЧ-инфекции и ВИЧ-моноинфекции

Цитокины (пкг/мл)		CD4+ (кл/мкл)	Достоверность p (r)	ВН РНК ВИЧ (коп/мл)	Достоверность p (r)
ИФН γ	Группа 1 (n=32)	-0,00311		0,047468	
	Группа 2 (n=30)	-0,08766		0,046826	
ИЛ-1 β	Группа 1 (n=32)	0,296654		0,098352	
	Группа 2 (n=30)	-0,01897		-0,19269	
ИЛ-10	Группа 1 (n=32)	-0,18859		0,15193	
	Группа 2 (n=30)	-0,24798		0,831525	$p<0,001$
ИЛ-2	Группа 1 (n=32)	-0,10198		0,188167	
	Группа 2 (n=30)	0,149247		-0,08996	

Примечание: пациенты с ВГС/ВИЧ-инфекцией - группа 1, пациенты с ВИЧ-моноинфекцией – группа 2.

Анализ группы ВИЧ-моноинфекции показал, что средние уровни ИФН γ имели сильную прямую связь с уровнем CD4+клеток ($r=0,856498$; $p<0,001$) и обратную связь средней силы с уровнем ВН ВИЧ ($r=-0,38$; $p<0,01$). Высокие уровни этого цитокина коррелировали только с показателями Т-хелперов, связь средней силы ($r=0,53513107$; $p<0,01$). Средние и высокие уровни ИЛ-1 β коррелировали с уровнем CD4+клеток, выявлена сильная обратная связь ($r=-0,62869$; $p<0,001$ и $r=-0,64213$; $p<0,001$ соответственно).

Значения коэффициента корреляции Пирсона (r) при анализе уровней CD4+клеток, вирусной нагрузки (ВН) РНК ВИЧ и показателей цитокинов в группе ВГС/ВИЧ-инфекции (n=32)

Цитокины пкг/мл		CD4+ (кл/мкл)	Достовер ность p (r)	ВН РНК ВИЧ (коп/мл)	Достовер ность p (r)
ИФН γ	Низкий 7,12 $\pm$ 3,77 (0,132 - 44,61)	0,524503	p<0,001	-0,14829	
	Средний 73,06 $\pm$ 6,72 (50,54 – 95,94)	0,188093		-0,34844	
	Высокий 317,13 $\pm$ 75,12 (114,8-697,9)	0,283709		-0,2306	
ИЛ-1 β	Низкий 4,67 $\pm$ 1,83 (0,124-24,74)	-0,03462		-0,18419	
	Средний 44,61 $\pm$ 2,98 (38,1-52,08)	0,161376		0,015988	
	Высокий 348,55 $\pm$ 59,40 (146,8-785,7)	0,296923		-0,07336	
ИЛ-10	Низкий 4,57 $\pm$ 0,80 (0,532-9,136)	0,334919		-0,23029	
	Средний 10,69 $\pm$ 0,25 (10,04-11,74)	0,052737		0,334736	
	Высокий 33,40 $\pm$ 4,09 (22,61-44,64)	-0,7169	p<0,001	0,700264	p<0,001
ИЛ-2	Низкий 15,47 $\pm$ 1,44 (12,24-18,33)	-0,98501	p<0,001	-0,87462	p<0,001
	Средний 28,18 $\pm$ 4,05 (19,14-36,25)	-0,98364	p<0,001	0,951092	p<0,001
	Высокий 201,38 $\pm$ 78,32 (63,34-385,8)	-0,28212		-0,38236	p<0,01

Высокие показатели ИЛ-10 имели прямую связь с ВН РНК ВИЧ ($r=0,718187103$; $p<0,001$). ИЛ-2 в низких и средних концентрациях имел прямую сильную связь ($r=0,988774$; $p<0,001$ и $r=0,75603832$; $p<0,001$), в высоких – сильную обратную связь ($r=-0,99996$; $p<0,001$) с ВН РНК ВИЧ. С уровнем CD4+клеток обратно коррелировали низкие и высокие уровни ИЛ-2 ($r=-0,7267$; $p<0,001$ и $r=-0,9943$; $p<0,001$).

Значения коэффициента корреляции Пирсона (r) при анализе уровней CD4+клеток, вирусной нагрузки (ВН) РНК ВИЧ и показателей цитокинов в группе ВИЧ-моноинфекции (n=30).

Цитокины пкг/мл		CD4+ (кл/мкл)	Достоверность p (r)	ВН РНК ВИЧ (коп/мл)	Достоверность p (r)
ИФН γ	Низкий 49,09 $\pm$ 4,59 (26,36-75,95)	0,128331		-0,19601	
	Средний 31,80 $\pm$ 15,38 (109,2-117,0)	0,856498	p<0,001	-0,38	p<0,01
	Высокий 305,09 $\pm$ 59,32 (204,16-507,5)	0,53513107	p<0,01	-0,26211405	
ИЛ-1 β	Низкий 0,23 $\pm$ 0,05 (0,123-0,768)	-0,012005876		-0,157879122	
	Средний 125,42 $\pm$ 12,57 (63,74-167,48)	-0,62869	p<0,001	0,089344	
	Высокий 340,61 $\pm$ 33,34 (212,3-493,8)	-0,64213	p<0,001	-0,02171	
ИЛ-10	Низкий 2,90 $\pm$ 0,84 (0,027-6,463)	-0,22699		0,020968	
	Средний 19,32 $\pm$ 2,80 (10,28-44,48)	-0,247474925		0,16112952	
	Высокий 87,29 $\pm$ 14,39 (53,37-112,6)	-0,23213		0,718187103	p<0,001
ИЛ-2	Низкий 17,43 $\pm$ 1,58 (15,0-21,25)	-0,7267	p<0,001	0,988774	p<0,001
	Средний 27,50 $\pm$ 2,46 (22,08-32,5)	-0,24022		0,75603832	p<0,001
	Высокий 59,45 $\pm$ 12,40 (34,17-86,68)	-0,9943	p<0,001	-0,99996	p<0,001

Средние уровни ИЛ-2 коррелировали с уровнем РНК ВИЧ (прямая сильная связь, r=0,75603832; p<0,001).

Таким образом, уровни ИФН γ имеют прямую зависимость от уровня CD4+клеток и обратную от ВН РНК ВИЧ. Это закономерно, поскольку Th1-лимфоциты являются продуцентами данного цитокина (Радченко В.Г., 2004; Ройт А., 2000; Freeman A.J.et al., 2001). ИЛ-10, напротив, имел прямую зависимость от ВН РНК ВИЧ, и обратную – от уровня CD4+клеток. Поскольку ИЛ-10 – типичный противовоспалительный цитокин, ингибирующий продукцию ИФН- γ , ИЛ-2 и весь Th1-ответ, и повышающий активность Th2-типа, логично, что уровни его

повышаются при угнетении клеточного иммунитета (Ройт А., 2000; Ярилин А.А., 1999). ИЛ-2, Т-клеточный ростовой фактор, имеет обратную зависимость от уровня CD4+клеток, что отражает механизм обратной связи, регулирующий синтез данного иммуномодулятора. Направление и сила связей в группах сочетанной и моноинфекции были схожи, показывая общую динамику иммунных факторов на фоне инфекционного процесса ВИЧ и ВГС/ВИЧ.

ГЛАВА 4. МЕТОДЫ ПВТ ХГС В СРАВНИТЕЛЬНОМ АСПЕКТЕ У ПАЦИЕНТОВ С ВГС-МОНОИНФЕКЦИЕЙ

4.1. ПВТ ХГС у пациентов с ВГС-моноинфекцией; сравнительная оценка влияния стандартных и пегилированных интерферонов на клиническое течение, иммуно-вирусологические и гематологические показатели

Проведенные российские исследования (см. обзор 1.2.) показывают сопоставимость результатов ВО пациентов, находящихся на лечении пегилированными и стандартными ИФН- α ; вполне удовлетворительную переносимость при возникновении побочных реакций - возможность модификации их доз, так как именно с применением ИФН- α прежде всего связано развитие нейтропении и тромбоцитопении во время проведения ПВТ, включая, назначение при изначальной цитопении. Применение комбинированной ПВТ Пег-ИФН- α и рибавирином, а также препаратов нового поколения для пациентов в России ограничено из-за высокой стоимости.

В исследовании участвовали 135 пациентов в возрасте $28,91 \pm 0,93$ лет (54% мужчин и 46% женщин) с ХГС, ранее не получавших ПВТ. Пациенты были разделены на две группы в зависимости от схемы комбинированной ПВТ: 1-я - ($n=70$) получала Пег-ИФН- $\alpha 2a$ («Пегасис») 180 мкг/нед и рибавирин 800-1200 мг/сут (в зависимости от генотипа вируса), табл. 4.31; 2-я ($n=65$) стандартные ИФН- $\alpha 2b$ («Реаферон[®]», «Интераль[®]-П») в сочетании с рибавирином (13 мг/кг/сут). Пациенты второй группы получали терапию ИФН- $\alpha 2b$ по 5 млн. МЕ ежедневно в первые 6 месяцев ПВТ, затем через день до 48 нед.; в зависимости от побочных реакций, доза снижалась до 3 млн. МЕ/сут. Часть больных при удовлетворительной переносимости (23%) получали высокие дозы ИФН- $\alpha 2b$ (5 млн. МЕ/сут.) до конца намеченного курса. При проведении ПВТ стремились не прерывать лечение. При появлении нежелательных явлений, как правило, временно снижали дозы лекарств; например, 2 раза в неделю вводили ИФН- $\alpha 2b$ по 5 млн. МЕ/сут., в остальные дни по 3 млн. МЕ/сут., что позволяло использовать различные комбинации доз

препаратов, не прекращая терапию. Длительность лечения у всех пациентов второй группы составляла 48 недель, т.к. международных рекомендации по Ст-ИФН- α и сокращению ПВТ до 24 недель у больных с «2а/3а» генотипами ВГС не было. ИФН-альфа в дозе 3 млн. МЕ 3 раза в неделю на протяжении 24-48 нед. позволяет достичь СВО у 20% больных; при увеличении дозы препарата до 5 млн. МЕ и удлинение курса лечения до 72 нед. СВО не превышает 25%. В основе низкой эффективности этих схем терапии ХГС - высокая скорость репродукции ВГС и генетическая гетерогенность вируса.

Группы были сопоставимы по возрасту, массе тела, длительности инфицирования, степени воспалительной активности процесса. Вирусная нагрузка до лечения была низкой (РНК ВГС < 400000 МЕ/мл) – у 28% и 40%, высокой (РНК ВГС > 400000 МЕ/мл) - у 72% и 60% больных, соответственно, в сравниваемых группах. В первой группе преобладали пациенты с «1а/1b» генотипом (73%). В исследование не включались: лица с аутоиммунными и другими хроническими декомпенсированными системными заболеваниями; пациенты с микст-гепатитами; с циррозом печени, а также имеющие степень фиброза >F3 (>12,5 кПа) по результатам пункционной биопсии печени или фибросканирования по шкале METAVIR рис. 4.10 и 4.11; больные с алкогольной болезнью, принимающие алкоголь или ПАВ; с нейтропенией <1500 кл/мкл, тромбоцитопенией <90 тыс. кл/мкл, низкой концентрацией гемоглобина для женщин - <120 г/л, для мужчин - <130 г/л, а также беременные и кормящие женщины; мужчины, имеющие беременных половых партнеров.

Исходные характеристики пациентов в сравниваемых группах

Характеристика пациентов	1 группа (n=70) Пег-ИФН- α + рибавирин	2 группа (n=65) Ст-ИФН- α + рибавирин
Мужчины, n (%)	42 (60)	31 (48)
Женщины, n (%)	28 (40)	34 (52)
Возраст (годы, $M \pm m$)	29,02 $\pm$ 1,15	28,79 $\pm$ 0,71
Длительность инфицирования, годы ($M \pm m$)	5,04 $\pm$ 0,51	5,14 $\pm$ 0,57
Масса тела (кг, $M \pm m$)	70,90 $\pm$ 2,08	69,38 $\pm$ 2,25
ИМТ ($M \pm m$)	24,01 $\pm$ 0,79	23,47 $\pm$ 0,89
Вирусная нагрузка РНК ВГС в ПЦР, n (%)		
<400000 МЕ/мл	20 (28)	26 (40)
>400000 МЕ/мл	50 (72)	39 (60)
АЛАТ ($M \pm m$), ед/л		
-мужчины	95,87 $\pm$ 10,26** (n=35)	91,01 $\pm$ 14,84** (n=25)
-женщины	51,31 $\pm$ 6,11 (n=22)	45,64 $\pm$ 4,77 (n=37)
Генотип вируса, n (%):		
-«1a/1b»	51 (73)	37 (56)
-«2a/3a»	19 (27)	28 (44)

Примечание: ** (p<0,01) - достоверность между показателями АЛАТ (ед/л) у мужчин и женщин.

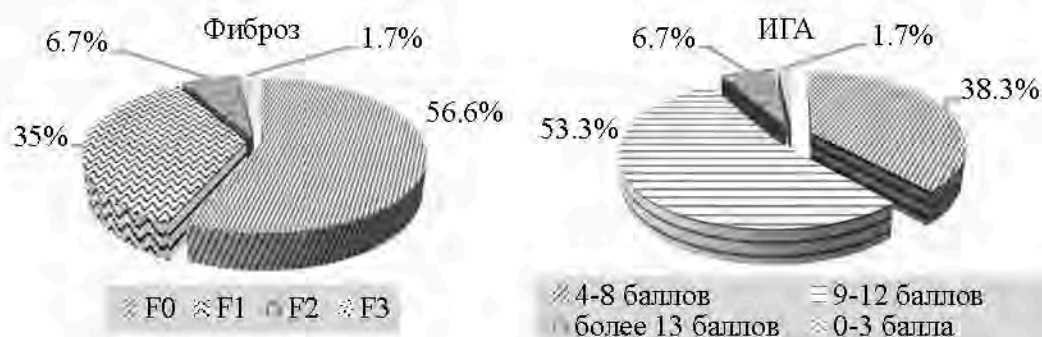


Рис. 4.10. Результаты морфологического исследования биоптатов печени пациентов с ХГС (n=60)

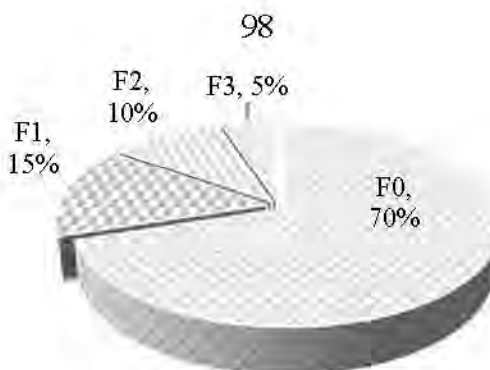


Рис. 4.11. Результаты фибросканирования печени пациентов с ХГС (n=66)

СВО был получен в 1-й группе у 59 (84,3%), во второй - у 53 (81,5%) пациентов (рис. 4.12), с преобладанием уровня (82,4% и 65,7%, $p < 0,01$) при генотипе 1 на терапии пегилированной формой.

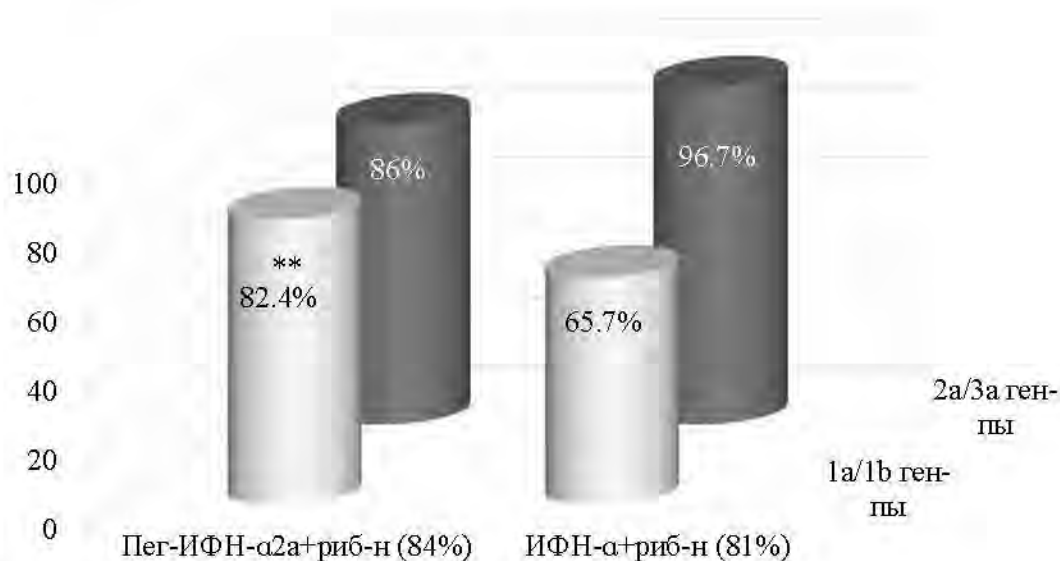


Рис. 4.12 Стойкий вирусологический ответ у пациентов сравниваемых групп

Примечание: ** ($p < 0,01$) - достоверность между показателями у пациентов сравниваемых групп.

Известно, что определение БВО является признаком исхода терапии с большей вероятностью достижения СВО, так при инфицировании ВГС 1 и 4 генотипов при получении авиремии на 4 нед. лечения частота СВО в результате 48 недельной терапии Пег-ИФН-α и рибавирином составляет 80-90% (McHutchison et

al., 2009), а при отсутствии БВО у пациентов с HCV 2 и 3 генотипов, частота СВО составляет всего 45-55% (Shiffman, M.L. et al., 2007). По нашим данным у пациентов, достигших БВО стойкий вирусологический ответ на терапию достигался в 82% случаях (рис.4.13).

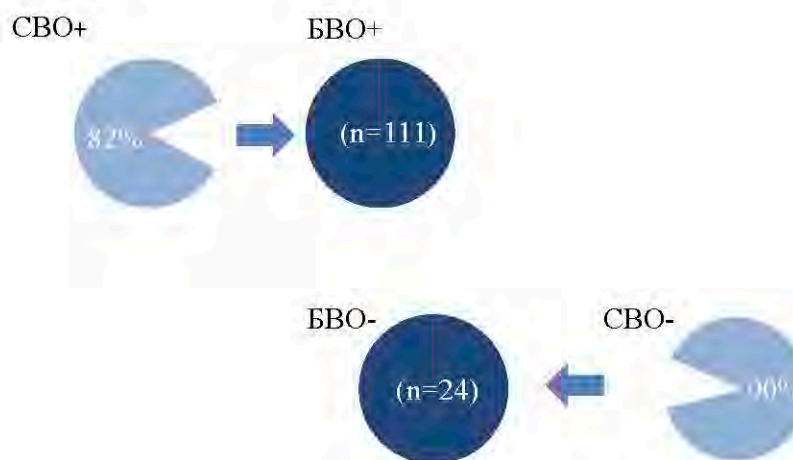


Рис. 4.13 Быстрый вирусологический ответ (БВО) - как прогностический индекс формирования стойкого вирусологического ответа (СВО) у пациентов ХГС

При исследовании показателей иммунного статуса (табл. 4.32) у пациентов, достигших СВО, при сравнительной характеристике применения Ст-ИФН-альфа или Пег-ИФН-альфа в сочетании с рибавирином отмечалось иммунокорригирующее действие препаратов в отношении субпопуляций Т-лимфоцитов (CD4+, CD8+, CD4+/CD8), NK-клеток без достоверных различий между показателями исследуемых групп. Относительные показатели CD4+ и CD8+ лимфоцитов, В-Лф. (абс. ч. и %) оставались на уровне исходных в течение ПВТ и после окончания лечения; следует отметить динамику NK-клеток - исходно низкие уровни достигали показателя здоровых на 24 нед. ПВТ. В группе пациентов с моноинфекцией ВГС, получавших ПВТ Ст-ИФН-альфа в комбинации с рибавирином и ответивших на лечение (табл. 4.33) динамика провоспалительных цитокинов (n=15) в процессе лечения характеризовалась снижением уровня ИЛ-1 β , в 4,5 раза на 24 нед лечения ($p < 0,01$) от исходного показателя, с дальнейшим

снижением уровня на 24 нед наблюдения; уровни ИЛ-2 были исходно повышены в 8 раз ($p<0,05$), с нормализацией показателя после окончания ПВТ.

Таблица 4.32

Показатели иммунного статуса пациентов моно-ВГС, достигших СВО, до, в течение и через 4 недели ПВТ

Показатели	здоровые n=52	До леч	24 нед ПВТ	4 нед набл	P
	1	2	3	4	
CD4 ⁺ , ($10^9/л$)					
Группа 1 (n=51)	0,76±0,04	0,860 ±0,04*	0,490±0,02**	0,570±0,03*	P _{2,3-4} <0,01
Группа 2 (n=34)		0,881±0,07*	0,512±0,04**	0,600±0,03*	P _{2,3-4} <0,01
CD4 ⁺ , %					
Группа 1 (n=51)	42,59±1,14	41,90±1,88	43,91±1,74	39,8±1,59	
Группа 2 (n=34)		40,96±1,43	42,93±1,07	40,51±1,45	
CD8 ⁺ , ($10^9/л$)					
Группа 1 (n=51)	0,57±0,03	0,620±0,05*	0,251±0,04**	0,370±0,03	P _{2,3-4} <0,01
Группа 2 (n=34)		0,610±0,04*	0,396±0,03**	0,350±0,02	P _{2,3-4} <0,01
CD8 ⁺ , %					
Группа 1 (n=51)	30,81±1,21	27,90±1,15	23,31±1,04	25,95±1,71	
Группа 2 (n=34)		26,87±1,91	24,45±1,02	25,61±1,85	
ИРИ					
Группа 1 (n=51)	1,49±0,14	1,50±0,09	1,87±0,16**	1,53±0,10	P _{2,3} <0,01
Группа 2 (n=34)		1,52±0,10	1,71±0,21**	1,49±0,27	P _{2,3} <0,01
CD16 ⁺ , ($10^9/л$)					
Группа 1 (n=51)	0,265±0,02	0,121±0,03*	0,241±0,52	0,258±0,08	P _{2,3-4} <0,01
Группа 2 (n=34)		0,130±0,06*	0,225±0,24	0,246±0,02	P _{2,3-4} <0,01
CD16 ⁺ , %					
Группа 1 (n=51)	14,41±1,14	11,52±1,79*	13,80±1,44	15,32±2,54	P _{2,3-4} <0,05
Группа 2 (n=34)		9,60±2,15*	14,75±2,01	16,21±2,21	P _{2,3-4} <0,05
В-Лф, ($10^9/л$)					
Группа 1 (n=51)	0,206±0,02	0,211±0,03	0,210±0,01	0,210±0,01	
Группа 2 (n=34)		0,214±0,01	0,208±0,04	0,212±0,02	
В-Лф, %					
Группа 1 (n=51)	11,75±0,83	10,30±0,64	9,83±0,64	11,20±0,73	
Группа 2 (n=34)		9,60±1,58	10,00±2,59	10,67±2,99	

Примечание: группа 1 – пациенты, получавшие Пег-ИФН-альфа и рибавирин; группа 2 – пациенты, получавшие стандартный ИФН-альфа и рибавирин. * $p<0,05$, ** $p<0,01$ - по сравнению со значением здоровых.

Обратная динамика наблюдалась в этой же группе пациентов для цитокинов - ИФН γ и ИЛ-10: исходно сниженные уровни ИФН γ ($p<0,01$) возросли с 4 нед. наблюдения ($p<0,01$), в 4 раза превышая значения здоровых лиц; концентрации ИЛ-10 у пациентов после окончания курса терапии также были достоверно выше показателей здоровых лиц ($p<0,01$), 2,4 раза превышая уровни здоровых лиц.

Показатели цитокинов у пациентов моно-ВГС, получавшие Ст-ИФН-альфа и рибавирин с достижением СВО до, в течение и через 24 недели ПВТ

Показатели		Здоровые n=25	До леч	24 нед ПВТ	4 нед набл	24 нед набл	Р
		1	2	3	4	5	
ИЛ-1 β пкг/мл	n=15	41,7 $\pm$ 16,4	52,24 $\pm$ 10,07	11,68 $\pm$ 1,80*	12,93 $\pm$ 3,04*	0,31 $\pm$ 0,16**	P _{2-3,4-5} <0,01
ИФН γ пкг/мл	n=15	35,7 $\pm$ 7,2	0,74 $\pm$ 0,29**	0,29 $\pm$ 0,45**	74,45 $\pm$ 22,01*	161,14 $\pm$ 25,11*	P ₂₋₃ <0,01 P _{2-4,5} <0,001
ИЛ-10 пкг/мл	n=15	13,1 $\pm$ 7,4	36,1 $\pm$ 16,4	31,71 $\pm$ 13,51	14,98 $\pm$ 3,95	31,10 $\pm$ 7,09**	P _{2,3-4 ; 4-5} <0,05
ИЛ-2 пкг/мл	n=15	26,9 $\pm$ 8,8	216,55 $\pm$ 31,21*	121,01 $\pm$ 16,11*	32,12 $\pm$ 7,8	26,22 $\pm$ 2,22	P ₂₋₃ <0,05 P _{2-4,5} <0,01

Примечание:*p<0,05, **p<0,01 - по сравнению с показателями здоровых лиц.

Данные моноинфицированных-ВГС пациентов по динамике уровня цитокинов до, в течение и после окончания ПВТ, получавших Пег-ИФН- α 2а и рибавирин, представлены в главе 5.

Мы проанализировали иммунный статус пациентов с исходно низкой или высокой ВН РНК ВГС, у которых перед началом ПВТ уровень иммунологических показателей был выше или ниже показателей здоровых лиц (табл. 4.34). У пациентов получавших стандартные или пегилированные формы ИФН-альфа (n=41) при низкой ВН РНК ВГС СВО был достигнут, независимо от уровня показателей иммунного статуса (абс. числа CD3+, CD4+, CD8+, CD4+/CD8+, NK, В-лимф./ак.HLA-DR клеток); за исключением В-лимф./ак.HLA-DR во второй группе, показатели которых были выше уровня здоровых у пациентов, достигших СВО. У пациентов (n=62) при исходно высокой ВН РНК ВГС СВО достигался чаще при показателях CD4+, CD8+, CD4+/CD8+ и В-лимф./ак.HLA-DR выше уровня здоровых у обследованных обеих групп.

Таблица 4.34

Стойкий вирусологический ответ в зависимости от иммунологических и вирусологических показателей до начала ПВТ у пациентов с ХГС в группах сравнения

Показатель, (здоровые n=52)		СВО есть /нет	РНК ВГС<400000 МЕ/мл		РНК ВГС>400000 МЕ/мл	
			1 гр-па (n=20)	2 гр-па (n=21)	1 гр-па (n=50)	2 гр-па (n=12)
Т-лимфоциты, ·10 ⁹ /л, (CD3+) 1,37±0,06	>1,37±0,06	есть	14(70%)	2(10%)	25(50%)	5(42%)
		нет	-	-	7(14%)	3(25%)
	<1,37±0,06	есть	6(30%)	19(90%)	14(28%)	3(25%)
		нет	-	-	4(8%)	1(8%)
Т-хелп./индукт., ·10 ⁹ /л, (CD4+) 0,760±0,04	>0,760±0,04	есть	10(50%)	1(4%)	23(46%)	5(42%)
		нет	-	-	7(14%)	2(17%)
	<0,760±0,04	есть	10(50%)	20(95%)	16(32%)	3(25%)
		нет	-	-	4(8%)	2(17%)
Т-супрессоры, ·10 ⁹ /л, (CD8+) 0,57±0,03	>0,57±0,03	есть	10(50%)	8(38%)	25(50%)	5(42%)
		нет	-	-	6(12%)	1(8%)
	<0,57±0,03	есть	10(50%)	13(62%)	29(58%)	3(25%)
		нет	-	-	5(10%)	3(25%)
ИРИ, 1,49±0,1	>1,49±0,1	есть	10(50%)	5(25%)	23(46%)	5(42%)
		нет	-	-	8(16%)	3(25%)
	<1,49±0,1	есть	10(50%)	16(71%)	16(32%)	3(25%)
		нет	-	-	3(6%)	1(8%)
НК-клетки, ·10 ⁹ /л, (CD16+) 0,265±0,02	>0,265±0,02	есть	7(35%)	13(62%)	17(34%)	5(42%)
		нет	-	-	3(6%)	1(8%)
	<0,265±0,02	есть	13(65%)	8(38%)	22(44%)	3(25%)
		нет	-	-	8(16%)	3(25%)
В-лимф./ак.HLA-DR, ·10 ⁹ /л 0,206±0,02	>0,206±0,02	есть	10(50%)	21(100%)	27(54%)	9(42%)
		нет	-	-	9(18%)	-
	<0,206±0,02	есть	10(50%)	-	12(24%)	-
		нет	-	-	2(4%)	3(25%)

Примечание: группа 1 – пациенты, получавшие Пег-ИФН-альфа и рибавирин; группа 2 – пациенты, получавшие стандартный ИФН-альфа и рибавирин.

У пациентов (n=62) при исходно высокой ВН РНК ВГС СВО достигался чаще при показателях CD4+, CD8+, CD4+/CD8+ и В-лимф./ак.HLA-DR выше уровня здоровых у обследованных обеих групп.

Таким образом, результаты комбинированной ПВТ по достижению СВО сопоставимы при сравнительной характеристике применения стандартных ИФН-α и Пег-ИФН-α, за исключением преобладания уровня СВО у пациентов с генотипом

1 при терапии пегилированными формами. Эффективность ПВТ в обеих группах сопровождалась иммуномодулирующим действием основных иммунокомпетентных клеток. Ответ на лечение у пациентов, получавших Пег-ИФН- α и рибавирин, с исходно низкой вирусной нагрузкой РНК ВГС перед началом лечения не зависел от уровня иммунологических данных, но при высокой ВН СВО был выше у исследованных при показателях CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ и В-лимф./ак. HLA-DR, не меньше уровня здоровых. Пациенты на стандартных ИФН-альфа не достигали СВО при низких показателях В-лимф./ак. HLA-DR. Данные по анализу выраженности иммунной дисфункции с оценкой ВН РНК ВГС до начала лечения у каждого конкретного пациента поможет в выборе оптимальных схем ПВТ и возможно облегчит обоснование назначения патогенетически ориентированных иммунокорригирующих препаратов, но до сих пор не выработаны предикторы эффективности терапии, связанные с функцией или морфологией иммунной системы.

4.1.1. Нежелательные явления при проведении ПВТ у пациентов с HCV-моноинфекцией

Нежелательные явления (НЯ), возникающие при применении ИФН- α и рибавирина, хорошо известны; они снижают приверженность к ПВТ и приводят к снижению дозы противовирусных препаратов или их отмене, что сопровождается уменьшением частоты формирования СВО. Проведенный нами сравнительный анализ НЯ в зависимости от формы применяемых ИФН- α выявил близкую частоту регистрации НЯ у больных в исследуемых группах (рис. 4.14). Гриппоподобный синдром (повышение температуры тела, головная боль, артралгии и миалгии) отмечался у 100% пациентов в обеих сравниваемых группах в начале терапии. Астеновегетативные проявления (слабость, быстрая утомляемость) зафиксированы у 76% больных, получавших Пег-ИФН- α 2а и у 47% - во 2-й группе, ($p < 0,01$). Снижение массы тела выявлено у 41% пациентов в 1 группе и у 79% - во 2-ой, ($p < 0,01$). Кроме того, больные отмечали выпадение волос (43% и 58%, $p < 0,05$),

сухость кожи и слизистых (22% и 24%, $p>0,05$), соответственно. Бактериальные осложнения (лакунарная ангина, акне вульгарис, отит, гнойный ринит, острый пиелонефрит, абцесс молочной железы, бронхит), наблюдавшиеся у 18% пациентов в 1 группе, у 26% во 2 группе, вероятно, свидетельствуют о подавлении фагоцитарных механизмов защиты организма на фоне развивающейся нейтропении во время проведения ПВТ.

Аутоиммунный тиреоидит диагностирован у 4% и 5% больных, соответственно. Со стороны мочеполовой системы зафиксированы следующие побочные реакции: нарушение менструального цикла у 8% женщин в 1 группе и у 10% - во 2-ой; минимальная протеинурия (от 300 мг до 1 г в сутки) на 2 и 4 неделях ПВТ в обеих группах (у 11% и 15%), аллергодерматозы у 39% и 18% ($p<0,01$) исследуемых, соответственно.

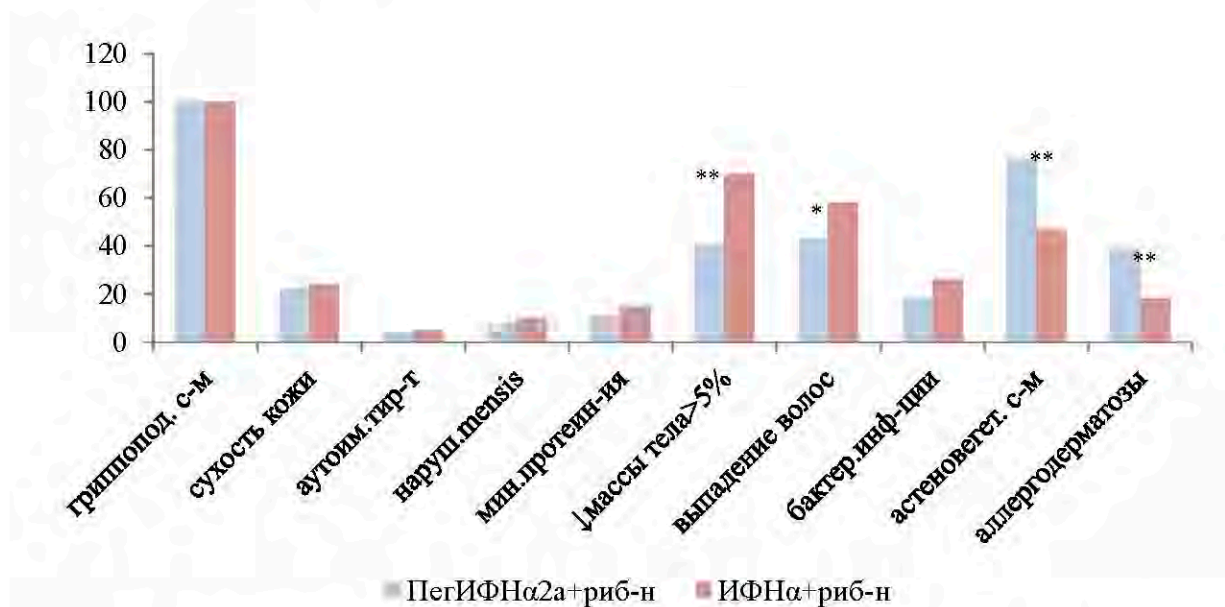


Рис. 4.14 Частота нежелательных явлений у пациентов на фоне ПВТ в сравниваемых группах, (%).

Примечание: *($p<0,05$), **($p<0,01$) - достоверность между показателями у пациентов сравниваемых групп.

Причиной неэффективности лечения больных ХГС, препятствующих проведению адекватного и полного курса лечения ИФН- α и рибавирином, является

развитие гематологических НЯ. До начала ПВТ показатели периферической крови в обеих группах не отличались от уровня здоровых лиц (табл. 4.35 и 4.36).

Таблица 4.35

Гематологические показатели пациентов с ХГС, получавших Пег-ИФН- α 2а и рибавирин до, в течение и через 24 недели после ПВТ

Показатели	I группа (n=70)				
	до лечения (n=70)	4 нед. лечения (n=70)	24 нед. лечения (n=70)	48 нед. лечения (n=51)	24 нед. наблюд. (n=59)
Лейкоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	6,3 $\pm$ 0,16	3,1 $\pm$ 0,12***	3,2 $\pm$ 0,16***	3,0 $\pm$ 0,18***	5,3 $\pm$ 0,26
Эритроциты $\cdot 10^{12}/\text{л}$					
-мужчины	4,8 $\pm$ 0,06	3,9 $\pm$ 0,08***	3,7 $\pm$ 0,09***	3,8 $\pm$ 0,09***	4,9 $\pm$ 0,06
-женщины	4,3 $\pm$ 0,06	3,9 $\pm$ 0,07***	3,5 $\pm$ 0,09***	3,4 $\pm$ 0,13***	4,2 $\pm$ 0,04
Гемоглобин, г/л					
-мужчины	155,0 $\pm$ 2,0	125,0 $\pm$ 3,0***	119,0 $\pm$ 2,8***	118,2 $\pm$ 4,02***	145,8 $\pm$ 6,2
-женщины	128,0 $\pm$ 2,1	107,0 $\pm$ 5,6*	107,6 $\pm$ 3,8*	104,7 $\pm$ 4,44*	129,3 $\pm$ 4,7
Тромбоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	246,0 $\pm$ 8,2	181,1 $\pm$ 8,8***	171,5 $\pm$ 8,0***	159,0 $\pm$ 9,96***	234,0 $\pm$ 8,1

Примечание: *- $p < 0,05$, ***- $p < 0,001$, сравнение достоверности показателей на фоне лечения и наблюдения с данными до начала терапии.

Таблица 4.36

Гематологические показатели пациентов с ХГС, получавших стандартные ИФН- α до, в течение и через 24 недели после ПВТ

Показатели	II группа (n=65)				
	до лечения (n=65)	4 нед. лечения (n=65)	24 нед. лечения (n=61)	48 нед. лечения (n=63)	24 нед. наблюд. (n=53)
Лейкоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	5,2 $\pm$ 0,17	3,9 $\pm$ 0,16***	4,0 $\pm$ 0,17***	4,2 $\pm$ 0,35*	4,8 $\pm$ 0,21
Эритроциты, $\cdot 10^{12}/\text{л}$					
-мужчины	4,5 $\pm$ 0,1	4,2 $\pm$ 0,15*	4,4 $\pm$ 0,94	4,6 $\pm$ 0,16	4,5 $\pm$ 0,13
-женщины	4,01 $\pm$ 0,08	4,0 $\pm$ 0,09	3,6 $\pm$ 0,11*	3,8 $\pm$ 0,12	4,0 $\pm$ 0,09
Гемоглобин, г/л					
-мужчины	150,3 $\pm$ 3,9	133,8 $\pm$ 4,41**	142,3 $\pm$ 5,58	149,9 $\pm$ 2,93	147,0 $\pm$ 5,92
-женщины	134,7 $\pm$ 2,41	126,2 $\pm$ 3,44	114,0 $\pm$ 5,44	121,1 $\pm$ 2,21	129,4 $\pm$ 3,6
Тромбоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	224,0 $\pm$ 5,97	207,4 $\pm$ 8,55	224,2 $\pm$ 9,65	236,6 $\pm$ 7,65	244,9 $\pm$ 5,79***

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$, сравнение достоверности показателей на фоне лечения и наблюдения с данными до начала терапии.

На фоне противовирусного лечения миелосупрессивный эффект наблюдался по всем исследуемым параметрам крови в обеих группах. Однако, при применении стандартных ИФН- α и рибавирина имела место более "мягкая" тенденция к

снижению этих величин, чем при использовании Пег-ИФН- α и рибавирина. Уровни эритроцитов и гемоглобина (муж. и жен.) максимально уменьшались на 24% ($p<0,001$) у пациентов первой группы, на 10% ($p<0,05$) - во второй. У больных, получавших Пег-ИФН- $\alpha 2a$ и рибавирин - лейкопения, анемия и тромбоцитопения наблюдались на ранних сроках (4 нед. ПВТ) и сохранялись достоверно ($p<0,001$) сниженными в течение всего лечения с нормализацией к 6 месяцам ($p<0,001$) после её окончания. На фоне противовирусной терапии ХГС, при сравнении показателей двух групп уже с 4 недели лечения наблюдались достоверно ($p<0,05$) низкие уровни лейкоцитов, гемоглобина у женщин; с 12 недели - эритроцитов и гемоглобина у мужчин и оставались сниженными весь период лечения по сравнению с показателями пациентов на стандартных ИФН-альфа (рис. 4.15 - 4.19). Обращает на себя внимание при сравнении гематологических показателей обеих групп особая реакция числа тромбоцитов. У пациентов второй группы не наблюдалось достоверного снижения числа тромбоцитов по сравнению с исходными данными ни на одном сроке контроля, тогда как в первой группе на всех сроках ПВТ имело место достоверное ($p<0,001$) снижение числа тромбоцитов от 26% до 35%. Достоверные различия ($p<0,05$ - $p<0,001$) уровня тромбоцитов между группами наблюдались с 4-48 недели лечения (рис. 4.20). Известно, что выраженная тромбоцитопения при комбинированном лечении, требующая снижения дозы препаратов, обычно не характерна, так как анемия под воздействием рибавирина вызывает у пациентов реактивный тромбоцитоз и лишь у 4-8% больных, получающих Пег-ИФН- $\alpha 2a$ и рибавирин, требуется снижение дозы, при этом количество тромбоцитов в крови на всем протяжении сочетанной терапии обычно остается относительно стабильным, даже при исходно сниженных показателях (Шифф Ю. Р. и др., 2010).

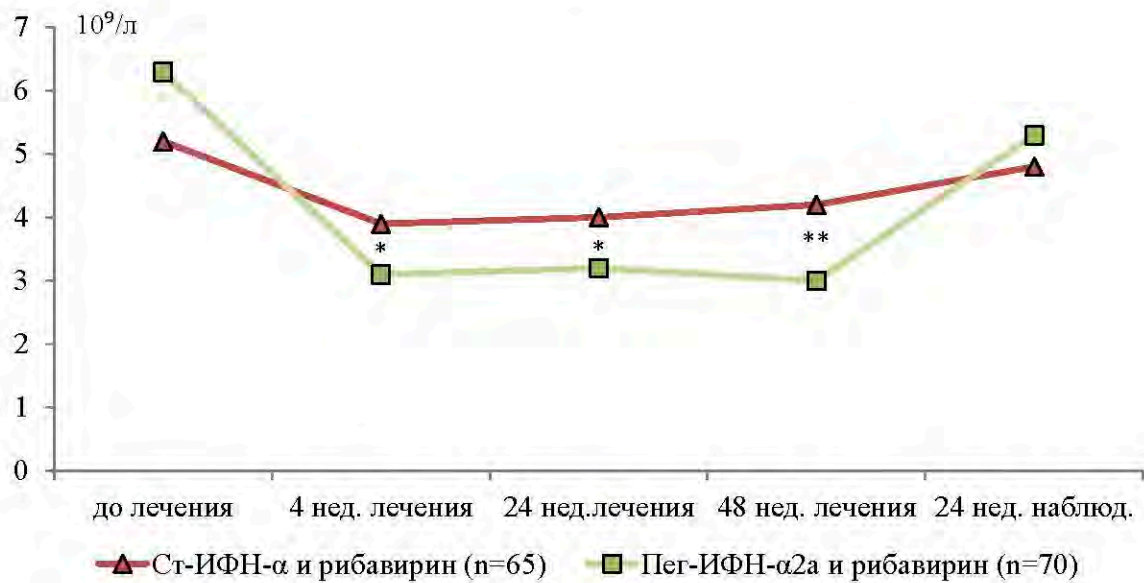


Рис. 4.15 Динамика уровня лейкоцитов у пациентов с ХГС в сравниваемых группах до, в течение и через 24 недели ПВТ

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, показатели, достоверно отличающиеся между 2 группами на фоне лечения.

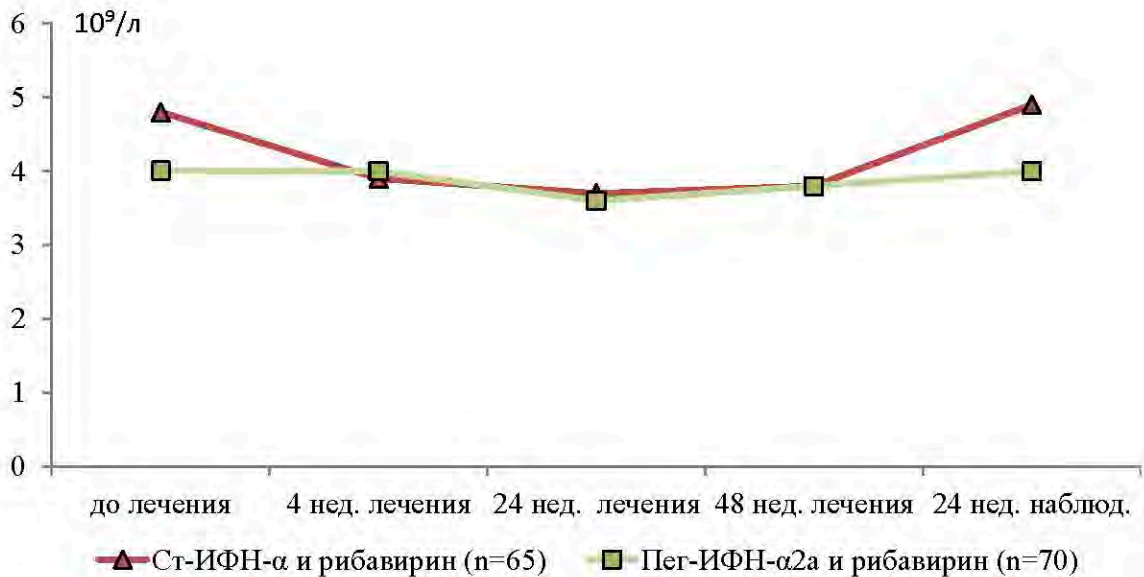


Рис. 4.16 Динамика уровня эритроцитов (женщины) у пациентов с ХГС в сравниваемых группах до, в течение и через 24 недели ПВТ

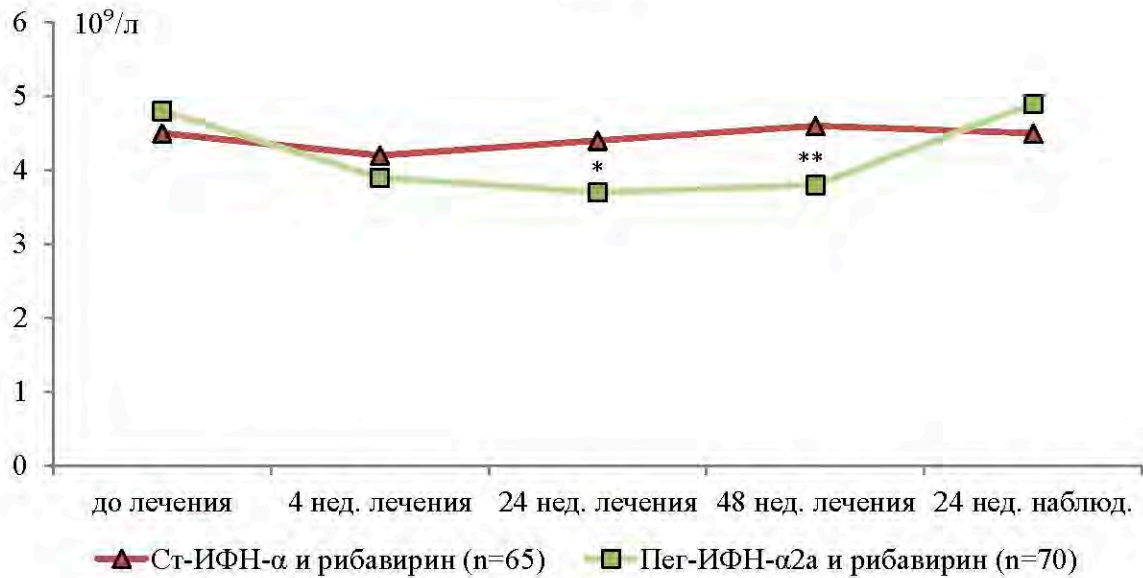


Рис. 4.17 Динамика уровня эритроцитов (мужчины) у пациентов с ХГС в сравниваемых группах до, в течение и через 24 недели ПВТ

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, показатели, достоверно отличающиеся между 2 группами на фоне лечения.

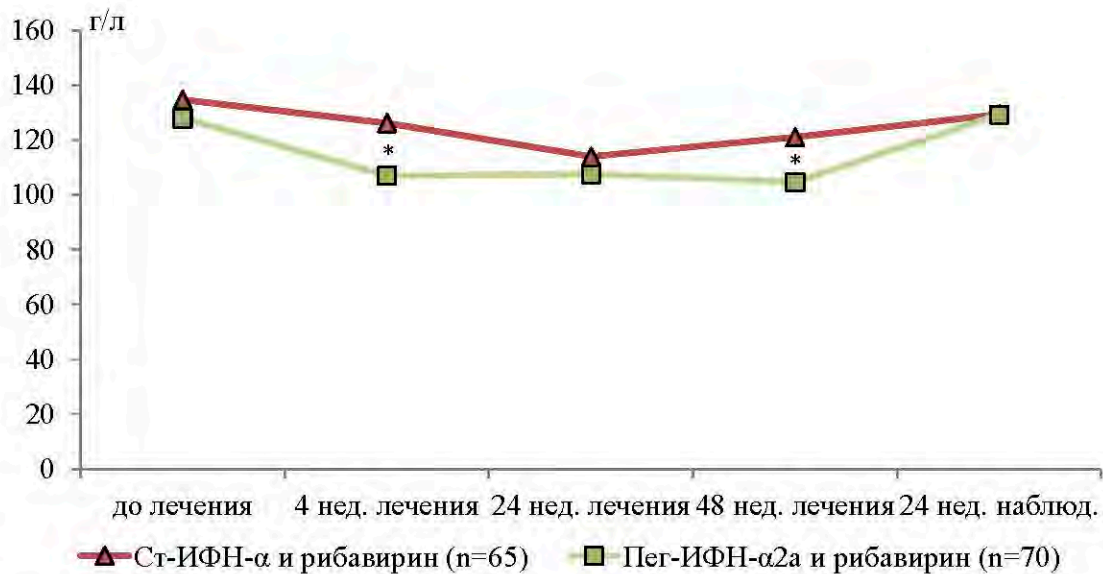


Рис. 4.18 Динамика уровня гемоглобина (женщины) у пациентов с ХГС в сравниваемых группах до, в течение и через 24 недели ПВТ

Примечание: * - $p < 0,05$, показатели, достоверно отличающиеся между 2 группами на фоне лечения.

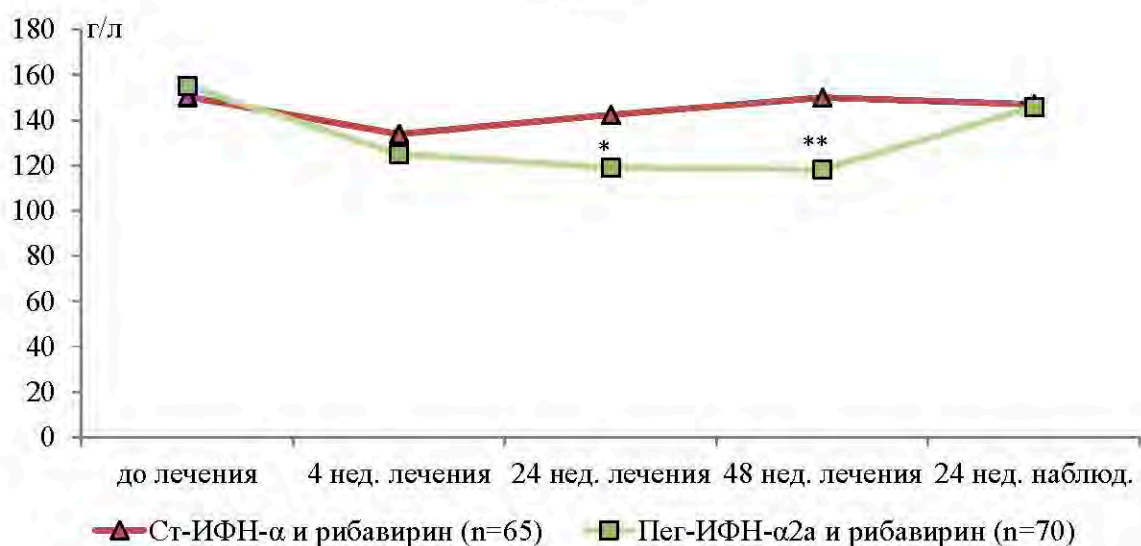


Рис. 4.19 Динамика уровня гемоглобина (мужчины) у пациентов с ХГС в сравнимых группах до, в течение и через 24 недели ПВТ

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, показатели, достоверно отличающиеся между 2 группами на фоне лечения.

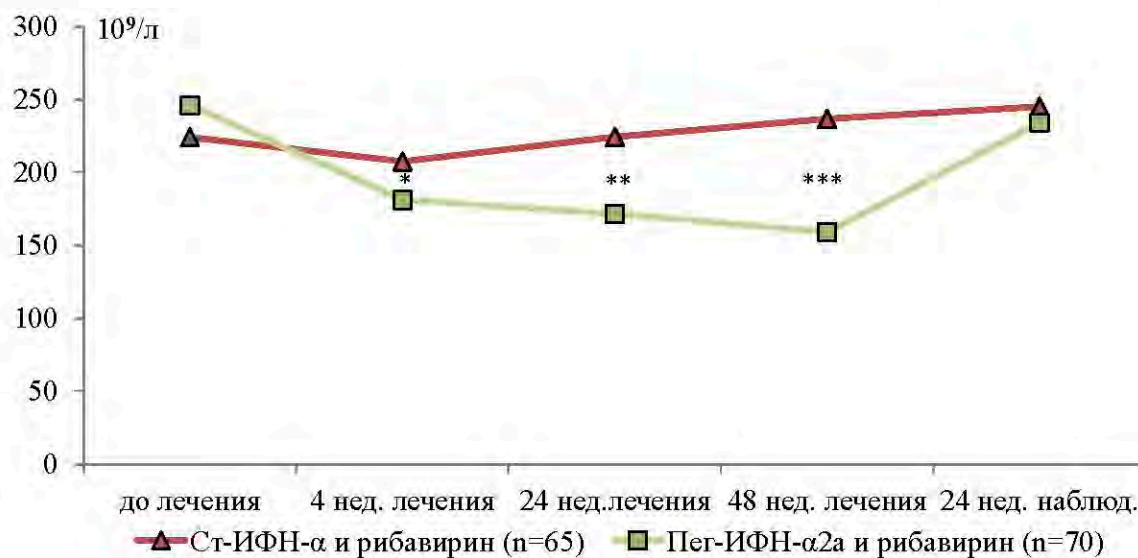


Рис. 4.20 Динамика уровня тромбоцитов у пациентов с ХГС в сравнимых группах до, в течение и через 24 недели ПВТ

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$, сравнение достоверности показателей между группами на фоне лечения.

Нежелательные явления при проведении ПВТ у больных ХГС встречаются приблизительно с одинаковой частотой вне зависимости от вида используемого ИФН-α, за исключением преобладания астеновегетативного синдрома и кожных

реакций при лечении Пег-ИФН- α 2а; снижения массы тела $>5\%$ и выпадения волос при применении стандартного ИФН- α 2в. Изменения гематологических показателей были равнозначными при применении различных форм ИФН- α на фоне лечения и через 24 недели наблюдения возвращались к уровню здоровых лиц. У пациентов первой группы все показатели ОАК были достоверно ниже по сравнению с исходными данными на фоне ПВТ. Уровни лейкоцитов, Hb и E γ (у муж.), Hb (у жен.) и тромбоцитов у пациентов, получивших Ст-ИФН-альфа и рибавирин были достоверно выше значений исследуемых первой группы в течение лечения. Таким образом, возможность назначения описанной выше "нестандартной" схемы ИФН- α определяется ее переносимостью.

4.1.2. Сравнительная оценка тромбоцитопении у пациентов с ВГС-моноинфекцией при применении стандартных и пегилированных интерферонов в комбинированной ПВТ ХГС

Оценка тромбоцитопении даёт возможность прогноза эффективности ПВТ пациентов с ХГС, являясь предиктором формирования СВО на лечение. По результатам Mauss S. И соавт. (2009), при анализе данных 2749 наивных пациентов получены доказательства, что с нарастанием степени тяжести тромбоцитопении у пациентов перед началом лечения уменьшается частота СВО и возрастает процент рецидивов. Тромбоцитопения также развивается у 20-30% пациентов при проведении ПВТ, что может приводить к необходимости снижения дозы противовирусных препаратов, что ведет к снижению частоты СВО или прекращению терапии.

По нашим данным (раздел 4.1.1) у больных, получавших Пег-ИФН- α 2а и рибавирин, исходные показатели тромбоцитов ($246,0 \pm 8,2 \cdot 10^9/\text{л}$), которые достоверно не отличались от уровня здоровых ($245,0 \pm 7,7 \cdot 10^9/\text{л}$), снижались с 4 нед. ПВТ и сохранялись достоверно низкими ($p < 0,001$) в течение всего лечения с нормализацией к 6 месяцам после её окончания по сравнению с показателями у пациентов, получавших стандартные ИФН- α и рибавирин. В патогенезе

тромбоцитопении выделяют два основных механизма: повышенное разрушение тромбоцитов и нарушение их образования. Повышенное разрушение тромбоцитов связано с синдромом гиперспленизма и аутоиммунными нарушениями. Нарушение образования тромбоцитов связано с подавлением костномозгового кроветворения, а также со снижением активности уровня тромбопоэтина. Подавление костномозгового кроветворения является одной из частых причин тромбоцитопении при вирусных заболеваниях печени вследствие прямого действия вирусов или в результате противовирусного лечения (Weksler B., 2007). Основным механизмом развития лекарственной тромбоцитопении является разрушение тромбоцитов комплементом, которое активируется реакцией препаратов, в т.ч. интерферонами, с антителами против него. В результате, это может быть причиной прерывания начатого лечения, что крайне нежелательно, особенно если речь идет о 1 генотипе вируса. Стимулятор гемопоэза – элтромбопаг («Револейд»®) в настоящее время является первым одобренным для лечения тромбоцитопении у больных ХГС, чтобы инициировать или поддерживать ПВТ ИФН-α, но стоимость и наличие НЯ ограничивают применение препарата.

Мы провели сравнительный анализ уровня тромбоцитов при проведении комбинированной терапии различными формами интерферонов у пациентов с генотипом 1 (1a, 1b, 1a+1b), в зависимости от стадии фиброза печени и с учетом активности инфекционного процесса. В исследование был включен 41 пациент, которым ПВТ проводилась в течение 48 недель (Пег-ИФН-α2а 180 мкг/нед + рибавирин в зависимости от массы тела) с генотипом HCV-1 (65,9% муж. и 34,1% жен.), в возрасте $34,38 \pm 1,37$ лет, ранее не получавших ПВТ ХГС, со сроком инфицирования $6,0 \pm 0,8$ лет. Исходные показатели активности HCV-инфекции определялись: высокой ВН РНК ВГС у 27 (65,85%) пациентов; уровнем АлАТ - $76,82 \pm 7,84$ ед/л, у мужчин – $66,1 \pm 7,37$ ед/л и $45,0 \pm 4,26$ ед/л у женщин. Из них с генотипом 1a - 11 пациентов, 1b – 26 человека, с генотипом 1a+1b – 4 исследованных. В группе с генотипом 1a (n=11) и фиброзом F0, низкая виремия РНК ВГС была у 3, высокая – у 8 пациентов; при низкой виремии плотность по METAVIR составила – (диапазон 3,6 – 6,8 кПа), при высокой – (4,3-5,7 кПа). В

группе пациентов ($n=26$) с генотипом 1b и высокой ВН ($n=16$) у 12 исследованных регистрировался фиброз F0 (плотность 2,8-5,7 кПа), у 3 фиброз F2 (плотность 7,3-7,9 кПа), у одного пациента определялся F4 (17,3 кПа); у пациентов с низкой ВН ($n=10$) в основном регистрировался фиброз F0 (от 2,8 кПа до 5,6 кПа, в среднем 4,23 кПа); у 2 пациентов – фиброз F1 и F2 (плотность 6,4 и 8,6 кПа, соответственно). Из 4 больных с генотипом 1a+1b низкая вирусная нагрузка была у 1 пациента (фиброз F0, плотность 4,9 кПа), высокая ВН ($n=3$) – у 2 пациентов (фиброз F0 4,9 и 5,6 кПа), у одного обследованного определялся F2 (8,6 кПа).

У пациентов второй группы ($n=37$), получавших ИФН- $\alpha 2b$ и рибавирин, не наблюдалось достоверного снижения числа тромбоцитов по сравнению с исходными данными ни на одном сроке диспансерного наблюдения, но достоверные различия ($p<0,05$ - $p<0,001$) между показателями двух групп наблюдались на 4-48 неделях лечения (раздел 4.1.1); исследованные были с HCV-1 (56% муж. и 44% жен.), в возрасте $33,12\pm 1,07$ лет, ранее не получавших ПВТ ХГС, со сроком инфицирования $5,8\pm 0,4$ лет. Исходные показатели активности ВГС-инфекции определялись: высокой ВН РНК ВГС у 27 (60,14%) больных; уровнем АЛТ - $73,11\pm 6,94$ ед/л, у мужчин – $66,1\pm 7,37$ ед/л и $47,05\pm 4,16$ ед/л у женщин. Из них с генотипом 1a - 10 пациентов, 1b – 23, с генотипом (1a+1b) – 4 исследованных.

Во второй группе ($n=10$) с генотипом 1a и F0, низкая вирусная нагрузка РНК ВГС была у 3, высокая – у 7 больных; при низкой вирусной нагрузке плотность по METAVIR составила – (диапазон 3,7 – 6,3 кПа), при высокой – (4,4 - 5,5 кПа). В группе пациентов ($n=23$) с генотипом 1b и высокой ВН ($n=15$) у 11 человек регистрировался показатель F0 (плотность 2,8-5,7 кПа), у 4 фиброз F2 (плотность 7,4-7,9 кПа); у пациентов с низкой ВН ($n=8$) в основном регистрировался фиброз F0 (от 2,8 кПа до 5,6 кПа, в среднем 4,23 кПа); у 2 пациентов – фиброз F1 и F2 (плотность 6,7 и 8,4 кПа, соответственно). Из 4 больных с генотипом (1a+1b) низкая вирусная нагрузка была у 1 исследованного (фиброз F0, плотность 4,9 кПа), высокая ВН ($n=3$) – у 2 пациентов (фиброз F0 4,4 и 5,7 кПа), у одного обследованного определялся F2 (7,6 кПа).

Антинуклеарные аутоантитела в крови пациентов ($n=76$) – не обнаруживались (титр антинуклеарных антител не позволяет судить об активности

заболевания и эффективности лечения), уровни антимикросомальных (n=78) и антимитохондриальных (n=78) - не были выше уровня здоровых лиц, соответственно - $3,60 \pm 1,07$ ед/л ($10,3 \pm 2,1$ ед/л) и $5,99 \pm 0,62$ (8,2 $\pm$ 1,2 Ме/мл), без статистических различий в показателях подтипов генотипа 1 ВГС (табл. 4.37).

Таблица 4.37

Показатели аутоантител у пациентов с ХГС, в зависимости от подтипа генотипа 1 ВГС

Показатель	Антинуклеарные аутоантитела (-/+)	Антимикросомальные аутоантитела (ед/л)	Антимитохондриальные аутоантитела (Ме/л)
генотипы HCV:			
- 1a (n=20)	отр	2,6 $\pm$ 0,58	5,7 $\pm$ 1,04
- 1b (n=42)	отр	3,2 $\pm$ 0,79	6,4 $\pm$ 0,82
- 1a+1b (n=8)	отр	2,7 $\pm$ 1,32	5,59 $\pm$ 0,58

Примечание: (-/+) – не обнаруживались/обнаруживались.

Средние значения тромбоцитов у пациентов (n=40), получавших Пег-ИФН- α 2a и рибавирин, с генотипом 1 (1a, 1b, 1a+1b), фиброз F0-F2 по срокам представлены (в табл. 4.38). Таким образом, пациенты обеих групп находились на стадиях F0-F2 (диапазон 2,8-8,6 кПа) по METAVIR, среди пациентов с генотипом 1a+1b превалировала высокая ВН РНК ВГС (75%), СВО получен у всех исследованных, показатели аутоантител не были повышены. Оценка уровня тромбоцитов проводилась до начала, через 4, 24, 48 недель терапии и 24 нед. наблюдения.

Таблица 4.38

Показатели тромбоцитов у пациентов с ХГС до, в течение и через 24 недели после ПВТ Пег-ИФН- α 2a и рибавирином

Показатель	до лечения	4 нед. лечения	24 нед. лечения	48 нед. лечения	24 нед. наблюд.
-мужчины	224,6 $\pm$ 12,11	164,4 $\pm$ 10,03***	176,0 $\pm$ 11,04***	144,7 $\pm$ 10,02***	245,8 $\pm$ 11,2***
-женщины	252,5 $\pm$ 13,01	196,2 $\pm$ 12,02***	159,2 $\pm$ 10,04***	137,7 $\pm$ 9,44***	249,3 $\pm$ 10,7
генотипы HCV:					
- 1a	249,5 $\pm$ 15,77	188,6 $\pm$ 11,7***	187,2 $\pm$ 15,20***	168,5 $\pm$ 15,99***	246,6 $\pm$ 12,12
- 1b	235,4 $\pm$ 12,71	164,9 $\pm$ 10,17***	146,0 $\pm$ 11,71***	151,1 $\pm$ 11,65***	246,0 $\pm$ 7,9**
- 1a+1b	248,25 $\pm$ 8,50	214,0 $\pm$ 11,3***	158,0 $\pm$ 12,76***	174,6 $\pm$ 13,81***	247,67 $\pm$ 13,8
РНК ВГС (МЕ/мл):					
<400000	256,4 $\pm$ 12,11	165,2 $\pm$ 13,3***	172,1 $\pm$ 7,42***	155,3 $\pm$ 10,02***	253,8 $\pm$ 10,2
>400000	227,3 $\pm$ 14,82	185,9 $\pm$ 12,3***	164,8 $\pm$ 10,83***	146,3 $\pm$ 11,73***	242,3 $\pm$ 10,7***

Примечание: ** - p<0,01, *** - p<0,001 – показатели сравнительной достоверности по отношению к исходным данным до лечения.

В нашем исследовании у пациентов первой группы на всех сроках ПВТ (4, 24, 48 нед.) имело место достоверное ($p < 0,001$) снижение исходно нормального числа ($240,55 \pm 7,6 \cdot 10^9/\text{л}$) тромбоцитов по сравнению с уровнем здоровых ($245,0 \pm 7,7 \cdot 10^9/\text{л}$), соответственно - $175,79 \pm 7,4 \cdot 10^9/\text{л}$ (4 нед. ПВТ), $171,65 \pm 7,7 \cdot 10^9/\text{л}$ (24 нед. ПВТ), $142,56 \pm 5,5 \cdot 10^9/\text{л}$ (48 нед. ПВТ). У мужчин исходный показатель был ниже по сравнению с данными у женщин, соответственно $224,6 \pm 12,11 \cdot 10^9/\text{л}$ и $252,5 \pm 13,01 \cdot 10^9/\text{л}$ ($p < 0,001$), но с 24 нед. и до окончания лечения достоверно ($p < 0,01$) превышал (рис 4.21); при этом у женщин с 1b генотипом в возрастных категориях от 30-39 и 40-49 лет показатели тромбоцитов на сроках - до ПВТ, 4, 24, 48 нед. (соответственно, $234,6 \pm 12,52 \cdot 10^9/\text{л}$, $182,5 \pm 12,07 \cdot 10^9/\text{л}$, $173,8 \pm 10,04 \cdot 10^9/\text{л}$, $162,5 \pm 12,05 \cdot 10^9/\text{л}$) и ($229,6 \pm 11,72 \cdot 10^9/\text{л}$, $186,5 \pm 10,17 \cdot 10^9/\text{л}$, $169,8 \pm 9,04 \cdot 10^9/\text{л}$, $152,5 \pm 14,05 \cdot 10^9/\text{л}$) были ниже ($p < 0,01$ - $p < 0,001$) по сравнению с данными ($243,8 \pm 11,11 \cdot 10^9/\text{л}$, $202,5 \pm 13,01 \cdot 10^9/\text{л}$, $193,6 \pm 12,04 \cdot 10^9/\text{л}$, $186,5 \pm 13,66 \cdot 10^9/\text{л}$) исследуемых женского пола молодого возраста (20-29 лет). Показатели тромбоцитов снижались с достоверностью ($p < 0,001$) на сроках лечения (4-48 нед.) по сравнению с исходными независимо от подтипов генотипа 1 HCV и ВН РНК ВГС. При 1b генотипе ($p < 0,01$) по сравнению с другими генотипами и высокой ВН РНК ВГС ($p < 0,001$) (по сравнению с низкой ВН РНК ВГС) уровни тромбоцитов был достоверно ниже исходно и на протяжении комбинированного лечения, но не достигали уровней требующих снижения дозы препаратов (рис. 4.22. и 4.23.).

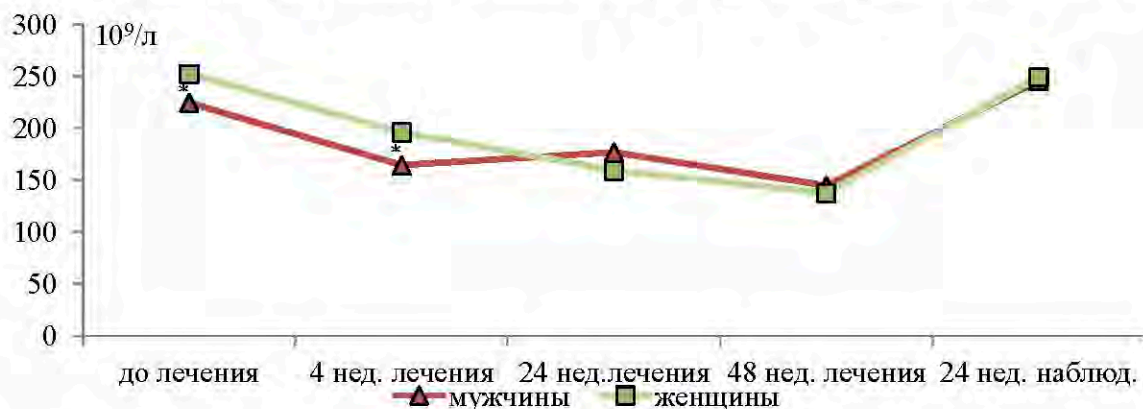


Рис. 4.21 Динамика показателей тромбоцитов у пациентов с ХГС до, в течение и через 24 недели после ПВТ Пег-ИФН- $\alpha 2a$ и рибавирином в зависимости от пола

Примечание: * - $p < 0,05$, сравнение достоверности значений мужчин и женщин до и на фоне лечения.

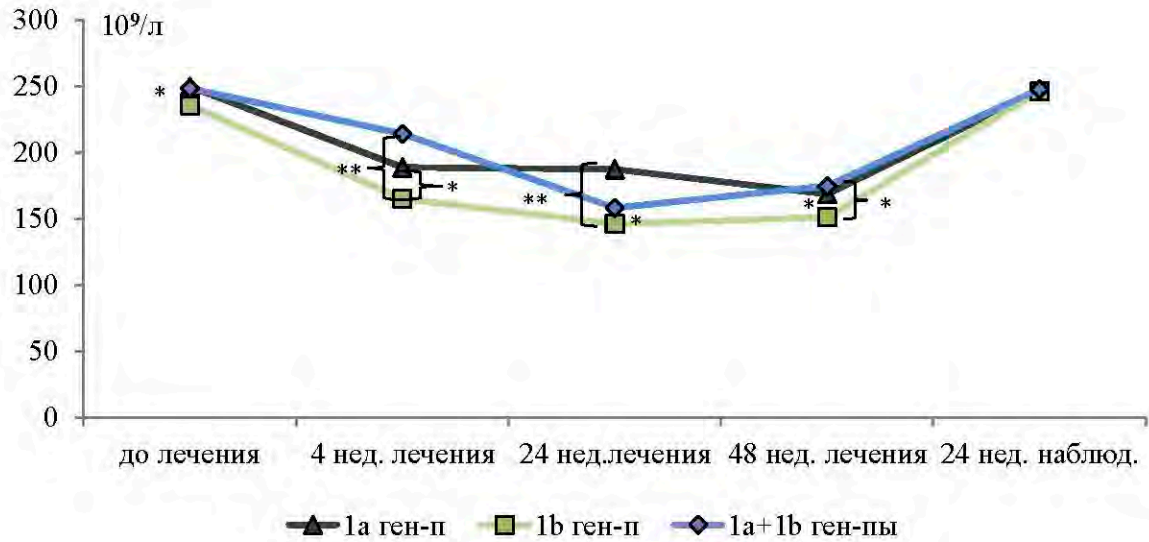


Рис. 4.22 Динамика показателей тромбоцитов у пациентов с ХГС до, в течение и через 24 недели после ПВТ Пег-ИФН- α 2а и рибавирином в зависимости от генотипа ВГС

Примечание: * - $p<0,05$, ** - $p<0,01$, сравнение достоверности между значениями генотипов ВГС до и на фоне лечения.

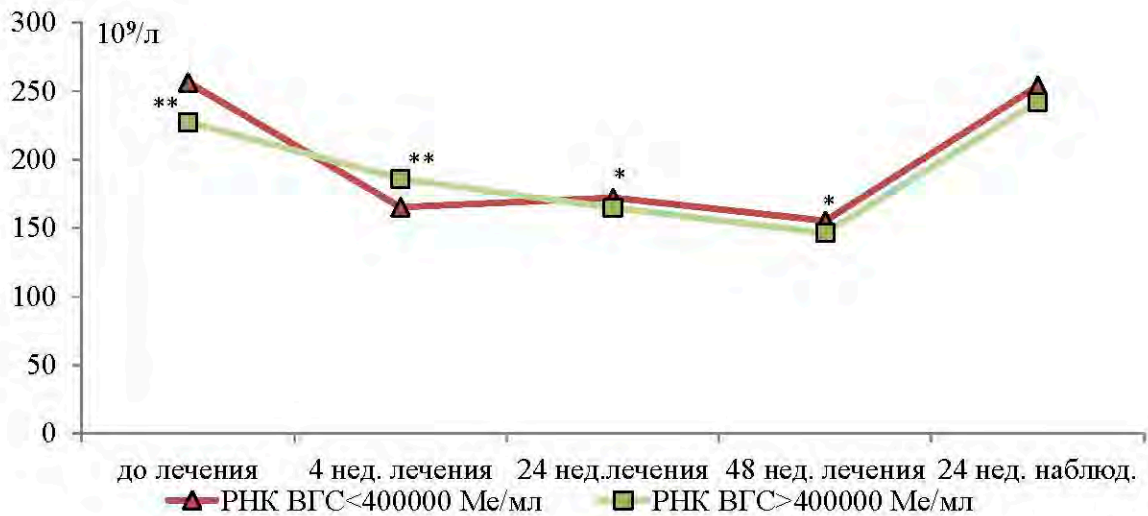


Рис. 4.23 Динамика показателей тромбоцитов у пациентов с ХГС до, в течение и через 24 недели после ПВТ Пег-ИФН- α 2а и рибавирином в зависимости от ВН РНК ВГС

Примечание: * - $p<0,05$, ** - $p<0,01$, сравнение достоверности значений Тг при различных уровнях ВН РНК ВГС до и на фоне лечения.

Коррекция тромбоцитопении проводилась только у одного пациента, с впервые диагностированным F4 по фиброскану. Известно, что тромбоцитопения – один из первых признаков далеко зашедшего прогрессирующего хронического заболевания печени (McHutchison J.G. et al., 2006), что может быть обусловлено развитием синдрома гиперспленизма, как следствия портальной гипертензии и проявления длительности патологического процесса в гепатобилиарной системе, что подтверждается описанным далее клиническим случаем. Пациент N, 44 года, в 2008 г впервые установлен диагноз: цирроз печени (класс А по Child-Pugh) в исходе ХГС (генотип 1b), выраженной воспалительной активности с синдромом портальной гипертензии (спленомегалия, расширение селезеночной вены), тромбоцитопения, F4 (17,3 kPa) по METAVIR. Эпид.анамнез: у матери пациента диагностирован цирроз печени (класс С по Child-Pugh) в исходе ХГС первично уже на стадии цирроза, до данного момента больной N. на маркеры ВГ обследован не был. Обнаружение сумм анти-HCV было случайным при медицинском осмотре по месту работы. Предположения о диагнозе ЦП возникли на основании низких показателей тромбоцитов. Из лабораторных данных до ПВТ: АлАТ-12N, АсАТ-6N, Tr-100·10⁹/л, ПТИ 68%; РНК ВГС в ПЦР 3160000 МЕ/мл. Комбинированную ПВТ (Пегасис 180 мкг/нед и рибавирин 1200 мг/сут) получил в течение 48 нед., с хорошей переносимостью, других нежелательных явления (кроме тромбоцитопении) не наблюдалось. Проводилась коррекция дозы Пег-ИФН-α2а - в первые 12 нед. терапии по причине снижения числа тромбоцитов <50·10⁹/л: 135 мкг/нед. – 1, 90 мкг/нед.- 5, 45 мкг/нед.- 2, отмена – 2 инъекций; с 12-48 нед. лечения уровни тромбоцитов сохранялись в пределах 50-100·10⁹/л. На 12 и 24 нед. терапии HCV-инфекции РНК в ПЦР не обнаруживалась, на 36 и 48 нед. РНК ВГС в ПЦР (+), АлАТ-5N, F4 (14,5 kPa). Таким образом, тромбоцитопения явилась ранним маркером цирроза печени у пациента, а также предиктором "неответа" на ПВТ; наблюдалась хорошая переносимость анти-HCV терапии за исключением снижения уровня тромбоцитов в первые 12 нед. лечения, которая требовала коррекции доз Пег-ИФН-α2а или отмены ПВТ.

При наблюдении пациентов с генотипом 1 второй группы также отмечалось достоверное ($p<0,01$ - $p<0,001$) снижение числа тромбоцитов по сравнению с исходными данными $238,1\pm9,16\cdot10^9/\text{л}$, соответственно на 4-48 нед. лечения ($227,6\pm10,02\cdot10^9/\text{л}$, $212,1\pm11,42\cdot10^9/\text{л}$, $216,5\pm9,04\cdot10^9/\text{л}$). При оценке динамике уровней тромбоцитов у исследуемых, получавших ИФН- $\alpha 2b$ и рибавирин, констатировалась сходная тенденция, что и в группе исследуемых, получавших Пег-ИФН- $\alpha 2a$; показатели тромбоцитов снижались с достоверностью ($p<0,01$) на всех сроках лечения (4-48 нед.) по сравнению с исходными независимо от подтипов генотипа 1 ВГС и ВН РНК ВГС (табл.4.39). У женщин исходный показатель был достоверно ($p<0,001$) выше по сравнению с уровнем у мужского пола, соответственно $243,5\pm14,01\cdot10^9/\text{л}$ и $227,4\pm11,11\cdot10^9/\text{л}$, но с 24 нед. и до окончания лечения достоверно ($p<0,01$) был ниже (рис. 4.24); при этом также у исследуемых женского пола с 1b генотипом в возрастных категориях от 30-39 и 40-49 лет показатели тромбоцитов на сроках - до ПВТ, 4, 24, 48 нед. (соответственно, $231,6\pm10,12\cdot10^9/\text{л}$, $180,5\pm12,42\cdot10^9/\text{л}$, $175,7\pm12,04\cdot10^9/\text{л}$, $202,5\pm11,02\cdot10^9/\text{л}$) и ($228,4\pm11,72\cdot10^9/\text{л}$, $181,5\pm12,27\cdot10^9/\text{л}$, $170,3\pm10,07\cdot10^9/\text{л}$, $201,8\pm12,36\cdot10^9/\text{л}$) были ниже ($p<0,01$ - $p<0,001$) по сравнению с данными ($243,8\pm11,11\cdot10^9/\text{л}$, $205,5\pm11,01\cdot10^9/\text{л}$, $203,2\pm13,04\cdot10^9/\text{л}$, $216,5\pm13,66\cdot10^9/\text{л}$) женщин молодого возраста

Таблица 4.39

Показатели тромбоцитов пациентов с ХГС до, в течение и через 24 недели после ПВТ ИФН- $\alpha 2b$ и рибавирином

Показатель	до лечения	4 нед. лечения	24 нед. лечения	48 нед. лечения	24 нед. наблюд.
-мужчины	227,4 $\pm$ 11,11	218,4 $\pm$ 10,01**	216,8 $\pm$ 9,04***	220,7 $\pm$ 9,02***	241,8 $\pm$ 10,2***
-женщины	243,5 $\pm$ 14,01	236,2 $\pm$ 9,02**	209,2 $\pm$ 8,02***	213,7 $\pm$ 9,24***	246,2 $\pm$ 10,7
генотипы HCV:					
-1a	245,5 $\pm$ 15,77	228,6 $\pm$ 9,7**	227,2 $\pm$ 9,20**	226,5 $\pm$ 11,63**	244,7 $\pm$ 11,17
-1b	232,6 $\pm$ 11,41	214,9 $\pm$ 10,27**	216,0 $\pm$ 9,71**	215,1 $\pm$ 12,05**	246,0 $\pm$ 9,9**
-1a+1b	248,2 $\pm$ 9,2	224,0 $\pm$ 10,3***	228,0 $\pm$ 15,76**	224,6 $\pm$ 15,81**	247,1 $\pm$ 12,8
РНК ВГС (МЕ/мл):					
<400000	243,3 $\pm$ 10,41	235,2 $\pm$ 9,3**	230,1 $\pm$ 7,02**	225,3 $\pm$ 12,07**	243,8 $\pm$ 12,4
>400000	237,3 $\pm$ 14,82	225,9 $\pm$ 11,3**	214,5 $\pm$ 9,83**	214,1 $\pm$ 11,73**	242,4 $\pm$ 11,5*

Примечание: * $p<0,05$, **- $p<0,01$, ***- $p<0,001$ – показатели сравнительной достоверности по отношению к исходным данным до лечения.

(20-29 лет). При 1b генотипе ($p < 0,01$) по сравнению с другими генотипами и высокой ВН РНК ВГС ($p < 0,001$) по сравнению с низкой ВН уровни тромбоцитов был достоверно ниже исходно и на протяжении комбинированного лечения, но не достигали значений, требующих снижения дозы препаратов (рис. 4.25 и 4.26).

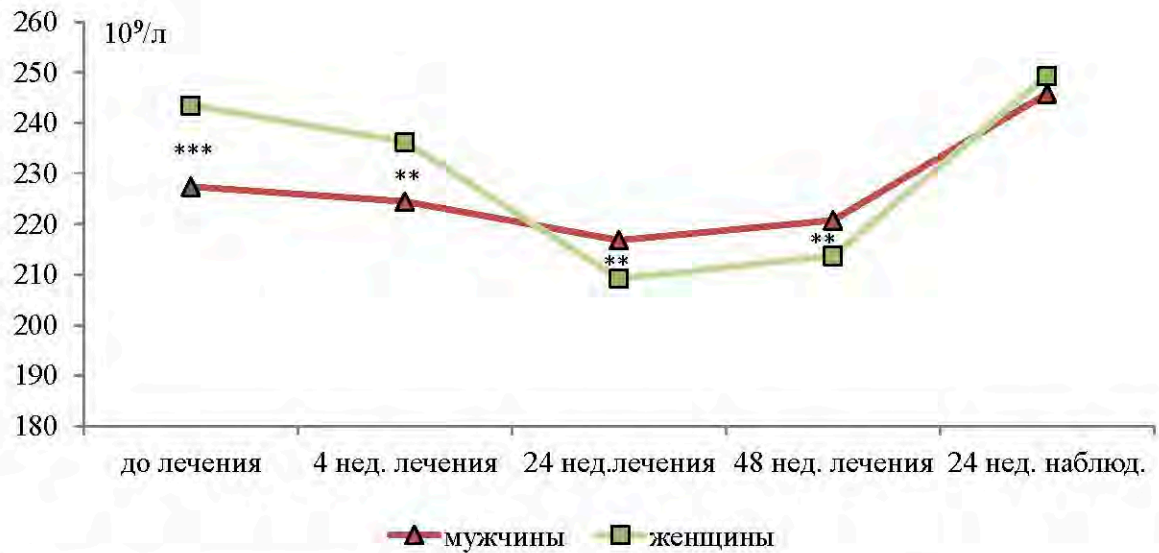


Рис. 4.24 Динамика показателей тромбоцитов у пациентов с ХГС до, в течение и через 24 недели после ПВТ ИФН-α и рибавирином в зависимости от пола

Примечание: * - $p < 0,05$, *** - $p < 0,001$, сравнение достоверности показателей Тг между мужчинами и женщинами до и на фоне лечения..

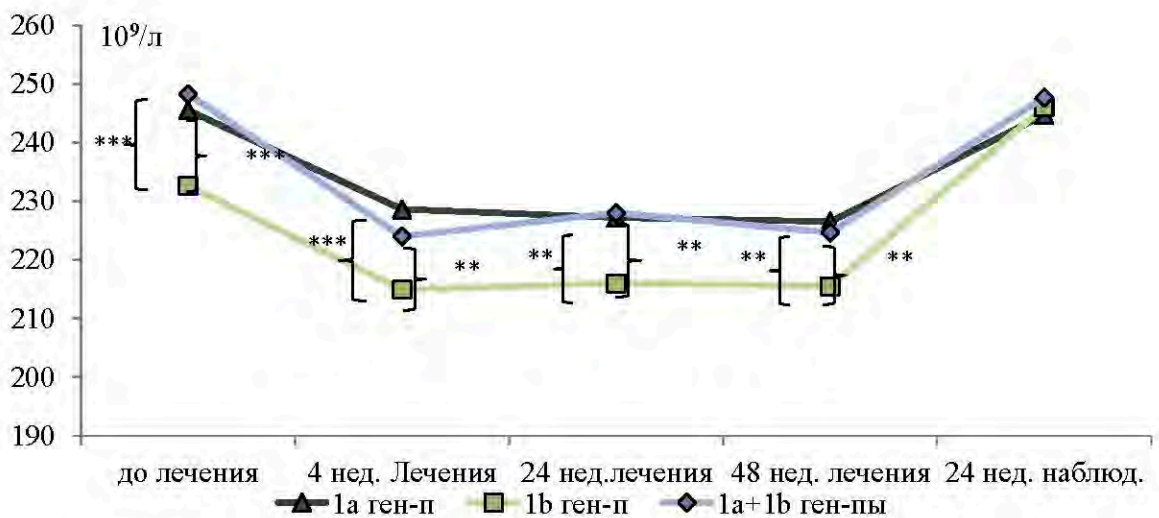


Рис. 4.25 Динамика показателей тромбоцитов у пациентов с ХГС до, в течение и через 24 нед. после ПВТ ИФН-α и рибавирином в зависимости от генотипа ВГС

Примечание: ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$, сравнение достоверности значений Тг при различных генотипах ВГС до и на фоне лечения.

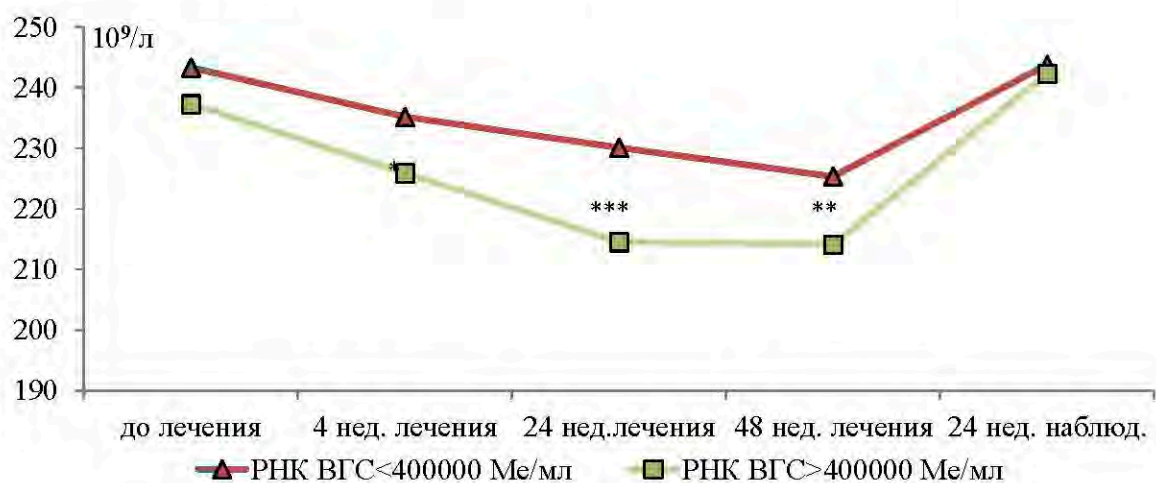


Рис. 4.26 Динамика показателей тромбоцитов у пациентов с ХГС до, в течение и через 24 недели после ПВТ ИФН- α и рибавирином в зависимости от ВН РНК ВГС

Примечание: ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$, сравнение достоверности значений Тг при различных уровнях ВН РНК ВГС до и на фоне лечения.

При сравнении показателей тромбоцитов (рис. 4.27 - 4.33) были достоверно ($p < 0,05$ - $p < 0,001$) выше на сроках ПВТ (4-48 нед.) у пациентов, получавших ИФН- $\alpha 2b$ по основным критериям сравнения (пол, субтипы 1 генотипа HCV, ВН РНК ВГС).



Рис. 4.27 Динамика уровня тромбоцитов (мужчины) у пациентов с ХГС в сравниваемых группах до, в течение и через 24 недели ПВТ

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ - сравнение достоверности показателей между группами на фоне лечения.

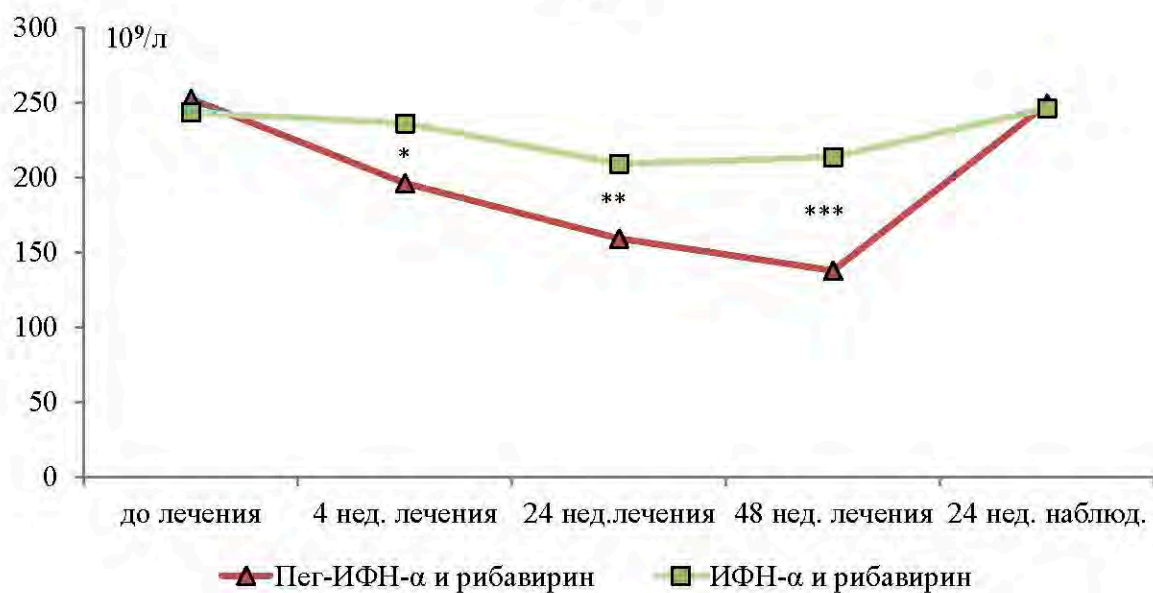


Рис. 4.28 Динамика уровня тромбоцитов (женщины) у пациентов с ХГС в сравниваемых группах до, в течение и через 24 недели ПВТ

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$, сравнение достоверности показателей между группами на фоне лечения.

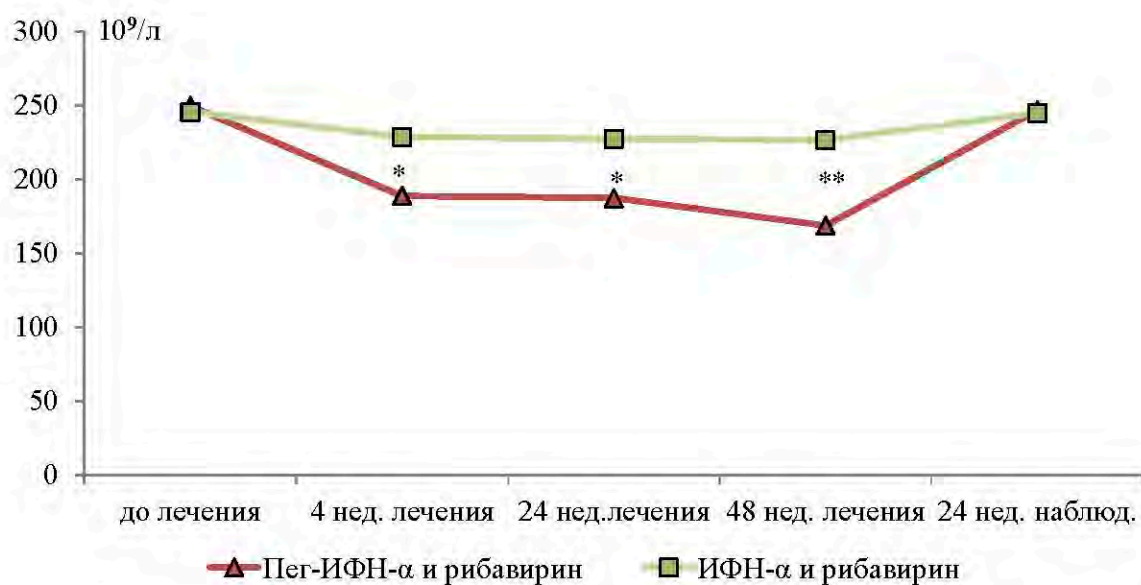


Рис. 4.29 Динамика уровня тромбоцитов у пациентов с ХГС генотип 1а в сравниваемых группах до, в течение и через 24 недели ПВТ

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, сравнение достоверности показателей между группами на фоне лечения и наблюдения

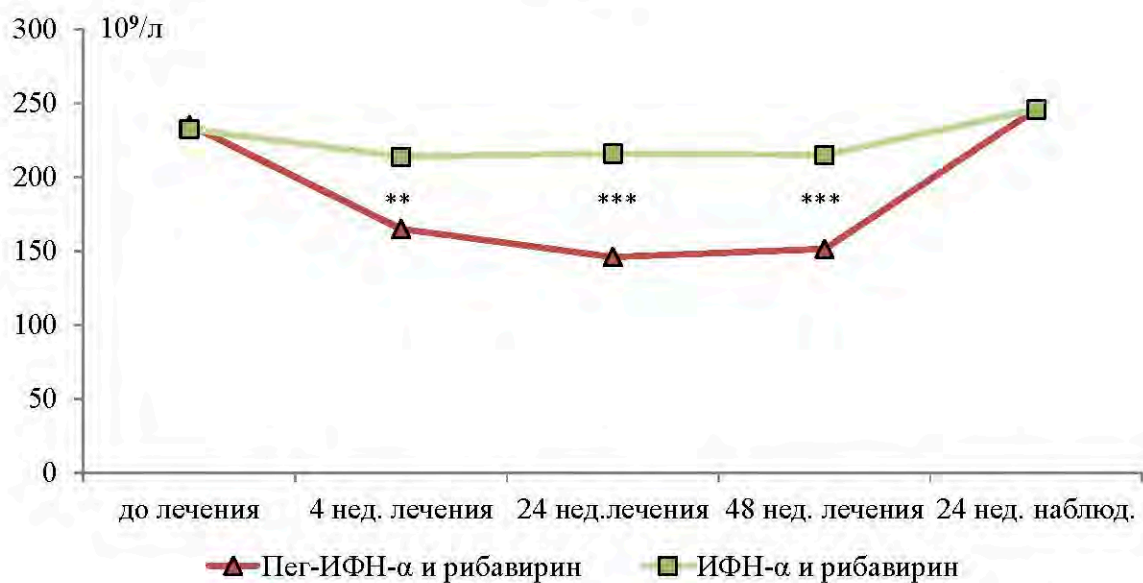


Рис. 4.30 Динамика уровня тромбоцитов у пациентов с ХГС генотип 1b в сравниваемых группах до, в течение и через 24 недели ПВТ

Примечание: ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$, сравнение достоверности показателей между группами на фоне лечения.

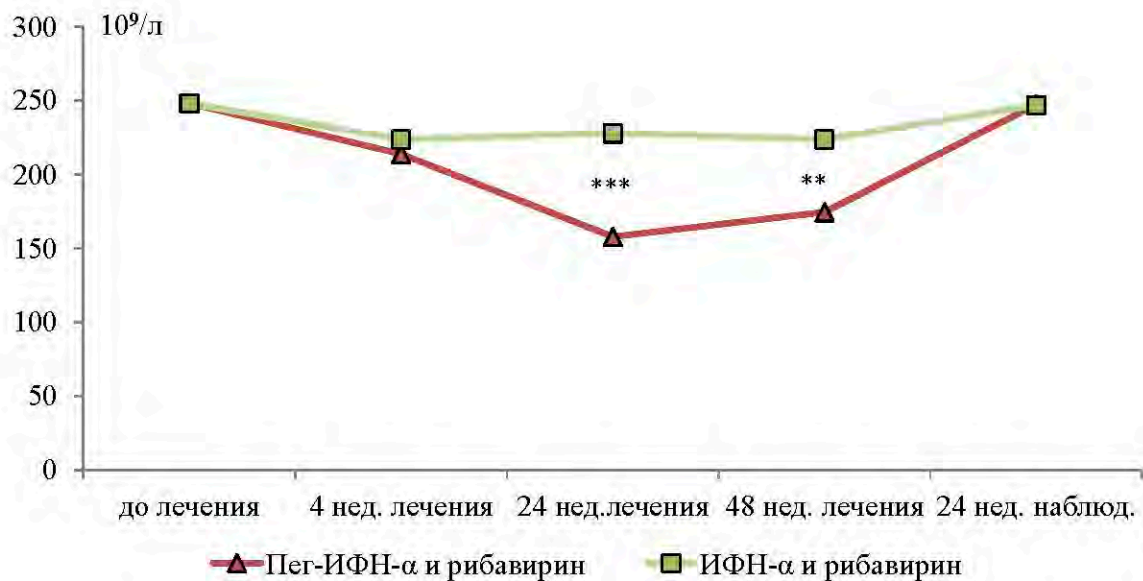


Рис. 4.31 Динамика уровня тромбоцитов у пациентов с ХГС генотип (1a+1b) в сравниваемых группах до, в течение и через 24 недели ПВТ

Примечание: ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$, сравнение достоверности показателей между группами на фоне лечения.

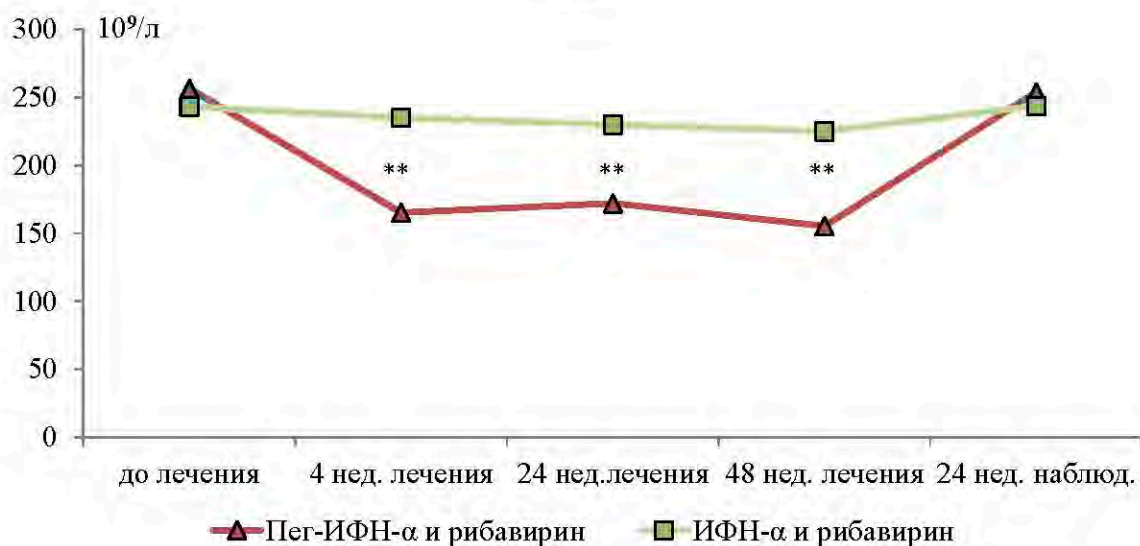


Рис. 4.32 Динамика уровня тромбоцитов у пациентов с ХГС и низкой ВН РНК ВГС в сравниваемых группах до, в течение и через 24 недели ПВТ

Примечание: ** - $p < 0,01$, сравнение достоверности показателей между группами на фоне лечения.

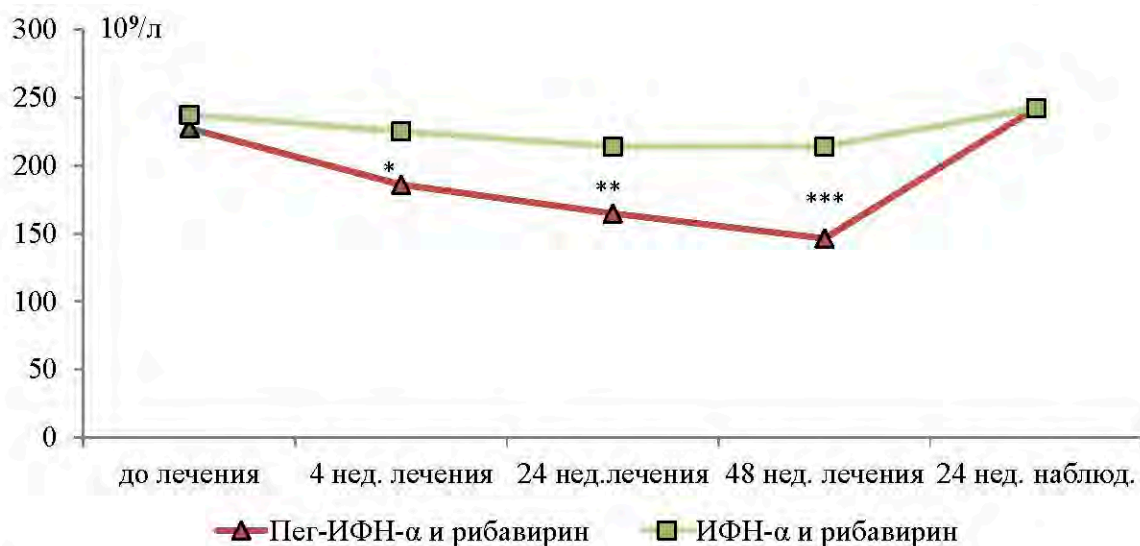


Рис. 4.33 Динамика уровня тромбоцитов у пациентов с ХГС и высокой ВН РНК ВГС в сравниваемых группах до, в течение и через 24 недели ПВТ

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$, сравнение достоверности показателей между группами на фоне лечения.

Таким образом, у пациентов с генотипом 1 (1a, 1b, 1a+1b), фиброз F0-F2, тромбоцитопения не требовала снижения дозы или отмены препаратов, независимо от получаемых видов ИФН-α. Достоверно ниже были показатели тромбоцитов у

исследуемых, получавших Пег-ИФН- α 2a (независимо от пола, субтипов 1 генотипа и ВН РНК ВГС) по сравнению с данными пациентов на стандартных ИФН- α 2b. Прогностическими критериями, указывающими на высокую вероятность возникновения тромбоцитопении в обеих группах на фоне ПВТ явились женский пол (возраст от 30-50 лет, все с генотипом 1b), высокая ВН РНК ВГС в ПЦР и 1b генотип.

4.1.3. Коррекция нейтропении и функциональной активности нейтрофилов при проведении противовирусной терапии хронического гепатита С при использовании различных форм интерферонов

У пациентов и первой ($n=70$) и второй ($n=65$) группы (глава 4) перед началом лечения среднее количество лейкоцитов и нейтрофилов в периферической крови достоверно ($p>0,05$) не отличались от уровня здоровых лиц ($6,30\pm0,16\cdot10^9/\text{л}$ и $5,55\pm0,28\cdot10^9/\text{л}$) и ($5,20\pm0,16\cdot10^9/\text{л}$ и $5,55\pm0,28\cdot10^9/\text{л}$), ($3,29\pm0,12\cdot10^3/\text{л}$ и $3,21\pm0,87\cdot10^3/\text{л}$) и ($3,18\pm0,14\cdot10^3/\text{л}$ и $3,21\pm0,87\cdot10^3/\text{л}$), соответственно. Число лейкоцитов во второй группе на сроках 4 нед., 12 нед. и 48 нед. снижались на 24% ($p<0,001$), 23% ($p<0,001$) и 16% ($p<0,05$), тогда как в первой группе – на 50% ($p<0,001$) в соответствующие сроки. Согласно общепринятой классификации различают следующие степени НП: легкую ($1,0-1,3\cdot10^3/\text{мкл}$), среднюю ($0,75-0,99\cdot10^3/\text{мкл}$), тяжелую ($0,5-0,75\cdot10^3/\text{мкл}$) и крайне тяжелую ($<0,5\cdot10^3/\text{мкл}$). В нашем исследовании легкая степень нейтропении (НП) определялась у 26% пациентов первой группы и у 26,2% больных в группе сравнения, средняя степень НП - у 14,9% и 13,1%; тяжелая - у 10% и 6,2%; крайне тяжелая - у 4,5% и 1,5% ($p<0,01$), соответственно (рис. 4.34.). Успех лечения во многом определяется достижением БВО или снижением уровня РНК ВГС в крови в первые месяцы, чему способствуют адекватно назначенные дозы и кратность препаратов для поддержания супрессии вирусной репликации, но возникающие НЯ препятствуют сохранению запланированного режима. При проведении ПВТ возникновение НП нередко приводит к необходимости снижения дозы или отмены противовирусных

препаратов. Так, по данным международных исследований НП послужила поводом для модификации доз у 6-8% больных при применении ИФН-α и рибавирина и у 18-21% при применении Пег-ИФН-α и рибавирина согласно критериям, рекомендованным к широкому клиническому применению (Hadziyannis S. et al., 2004; Pockros P., et al., 2004).

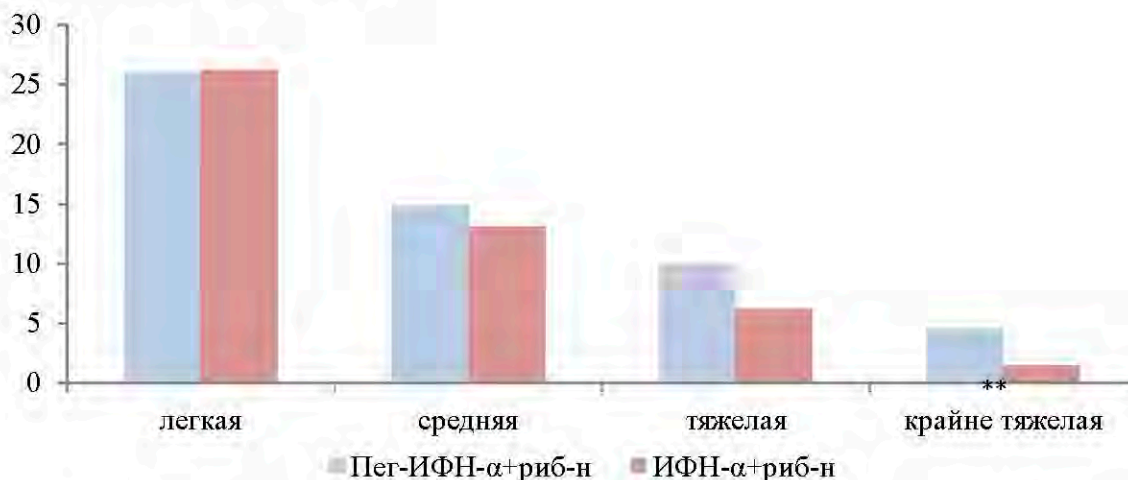


Рис. 4.34 Частота развития нейтропении по степеням на фоне ПВТ в сравниваемых группах, (%)

Примечание: ** (p<0,01) – показатели, достоверно отличающиеся между 2 группами.

С целью коррекции НП пациентам назначался глюкозаминил-мурамилдипептид (ГМДП) - препарат «Ликопид» («ПЕПТЕК», Россия, регистрационный номер ЛС-0011438) в начале лечения (1-4 месяцы ПВТ), так как именно на ранних сроках наблюдалось развитие НП у пациентов, получавших и Пег-ИФН-α2а и стандартные ИФН-α. ГМДП по структуре представляет собой полусинтетический аналог мурамилпептидов с дополнительным сахарным остатком (N-ацетилглюкозамин); нецитокиновый адъювант, который может быть получен синтетическим путем (что обуславливает низкую стоимость), обладающий более длительным периодом полувыведения (что обуславливает уменьшение кратности приема), с низкой токсичностью, без выраженных НЯ, при энтеральном пути назначения (per os или сублингвально). Впервые при вирусных гепатитах препарат применялся Аникушиной А.К. (2000). В работе были показаны особенности влияния ликопида в эксперименте *in vitro* на основные параметры

клеточной активации и рекомендовано включение его в комплекс терапевтических мероприятий при ХГС в фазе реактивации. По данным автора ликопид активирует иммунокомпетентные клетки, преимущественно Т-хелперы, повышая экспрессию как ранних, так и поздних маркеров активации, повышает готовность периферических CD4+ лимфоцитов больных ХГС к апоптозу, а также увеличивает популяцию CD8+ клеток, несущую рецепторы для C3b компонента комплемента. В нашем исследовании основным критерием назначения препарата была средняя степень НП. «Ликопид» назначался в таблетках по 1 мг 2 раза в день в течение 20 дней сублингвально. Следует отметить, что ни у одного пациента во время и после курса лечения не наблюдалось каких-либо НЯ, непереносимости и гипертермических реакций. ГМДП был назначен 36 пациентам, получавшим Пег-ИФН- α 2а (n=10) и стандартные ИФН- α (n=26) и помимо исследований, согласно протоколу ПВТ, было проведен анализ периферической крови и фагоцитарного звена иммунного статуса до- и после назначенного курса ликопида.

У пациентов с ХГС, находящихся на ПВТ после курса ГМДП (табл. 4.40) наблюдалось увеличение уровня лейкоцитов и достоверное повышение числа нейтрофилов ($p < 0,001$) рис. 4.35; имелась тенденция к снижению уровня лимфоцитов и моноцитов.

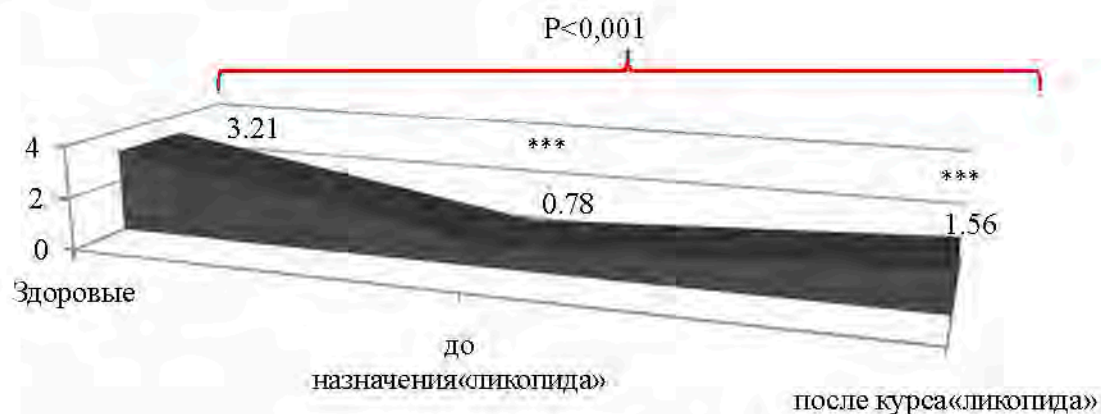


Рис. 4.35 Динамика показателей нейтрофилов периферической крови у пациентов ХГС, находящихся на ПВТ, до- и после курса «Ликопида»

Примечание: ***($p < 0,001$) –показатель достоверности по отношению к уровню здоровых лиц.

Таблица 4.40

Динамика показателей периферической крови у пациентов ХГС, находящихся на ПВТ, до- и после курса глюкозаминилмурамилдипептида (ГМДП)

Показатели, 10 ³ /мкл	Здоровые n=52	Пациенты с ХГС на фоне ПВТ		Достоверность между группами
		до назначения ГМДП (n=36)	после курса ГМДП (n=36)	
		1.	2.	
Лейкоциты	5,55±0,28	2,35±0,12 ***	2,86±0,18 ***	-
Нейтрофилы	3,21±0,087	0,78±0,06 ***	1,56±0,08 ***	2-3 - p<0,001
Лимфоциты	1,92±0,089	1,19±0,11 ***	1,06±0,12 ***	-
Моноциты	0,33±0,5	0,25±0,04	0,22±0,04	-

Примечание: ***(p<0,001) – показатели, достоверно отличающиеся от уровня здоровых лиц.

Наряду с повышением числа лейкоцитов и нейтрофилов, препарат восстанавливал ФАН до уровня здоровых лиц (табл. 4.41), достоверно повышал ФЧ (p<0,01), являющееся наиболее информативным для оценки фагоцитарного звена

Таблица 4.41

Динамика показателей фагоцитарной защиты у пациентов ХГС, находящихся на ПВТ, до- и после курса глюкозаминилмурамилдипептида (ГМДП)

Показатели	Здоровые n=52	Пациенты ХГС на фоне ПВТ		Достоверность между группами
		до назначения ГМДП (n=18)	после курса ГМДП (n=16)	
		1.	2.	
ФАН, %	78,03±1,94	64,03±4,47 *	75,71±3,56	-
ФЧ, микробных частиц в нейтрофиле	5,73±0,32	4,31±0,34 *	7,39±0,75	2-3 - p<0,01
НСТ сп, %	9,10±1,17	9,07±2,37	17,07±2,46 *	2-3 - p<0,05
НСТ ст, %	40,12±3,88	51,00±7,41	51,96±6,21	-
Комплемент, Е/мл	60,50±2,54	46,97±7,32	43,33±5,78 *	-

Примечание: * p<0,05 – показатели, достоверно отличающиеся от уровня здоровых.

иммунитета и стимулировал функционально-метаболическую активность нейтрофилов в спонтанном варианте НСТ-теста (p<0,05) на фоне сохранения их резервных возможностей (в индуцированном НСТ-тесте) и снижения

комплементарной активности сыворотки, вероятно, за счет повышенного потребления компонентов комплемента.

Таким образом, развитие нейтропении на ранних сроках ПВТ наблюдалась с одинаковой частотой у больных, получавших стандартные ИФН- α и находящихся на лечении пегилированной формой, за исключением крайне тяжелой степени, которая достоверно ($p < 0,01$) чаще определялась в первой группе. В результате проведенного исследования выявлено корригирующее влияние отечественного лекарственного средства «Ликопид» на нарушенные звенья фагоцитарных механизмов защиты у больных с ХГС, получавших индукционные дозы ИФН- α с его ежедневным введением и находящихся на лечении пегилированной формой. Препарат оказывал положительное влияние на характер фагоцитарных нарушений: стимулировал лейкопоз, коррегировал «раннюю» нейтропению (до 12 недели лечения, число нейтрофилов - $0,75-0,99 \cdot 10^3/\text{мкл}$), повышал резервные возможности функционально-метаболической активности гранулоцитов таким образом, предупреждая развитие «поздней» нейтропении (после 12 недели лечения) с истощением фагоцитарного звена иммунитета, это позволило не снижать дозы интерферонов и повысить эффективность ПВТ ХГС. Что определяется способностью ГМДП активировать иммунную систему, что в свою очередь связано с наличием в цитоплазме иммунокомпетентных клеток специфических NOD2-рецепторов из группы паттернраспознающих рецепторов врожденного иммунитета, которые в основном обнаружены в фагоцитирующих клетках – моноцитах/макрофагах, гранулоцитах и дендритных клетках, обеспечивающих начальные и конечные фазы иммунного ответа.

4.2. Эффективность и безопасность терапии сопровождения ХГС с использованием цитокиновых препаратов интерлейкина-1 β или интерферона- γ в сочетании с альфа-интерфероном и рибавирином у пациентов ВГС-моноинфекцией при отсутствии ответа на предшествующую ПВТ (интерфероном и рибавирином)

Несмотря на появление с 2011 года новых препаратов (ингибиторы протеазы, ингибиторы полимеразы, ингибиторы NS5A-комплекса и др.) для этиотропной терапии ХГС, остается актуальным поиск рациональных методов лечения у пациентов, неответивших на предыдущую ПВТ, так использование ингибиторов протеаз в комбинированной терапии позволяет достичь СВО у 29-88% пациентов в зависимости от вариантов ответа на первичную ПВТ (Jacobson I.M. et al., 2011; Zeuzem S. et al., 2011), а также необходимо учитывать количество побочных эффектов и стоимость современных схем лечения. Вирус гепатита С имеет механизмы противодействия защитным реакциям организма за счет блокирования биологического действия ИФН- α , что может быть причиной «неответа» на терапию. В то же время известно, что в осуществлении противовирусной активности помимо ИФН- α участвуют и другие цитокины, в частности ИЛ-1 β и ИФН- γ . Иммуностимулирующее действие и способность индуцировать продукцию ИФН лежат в основе противовирусной активности ИЛ-1 β , однако, наиболее интересными являются данные о том, что сам ИЛ-1 β обладает прямым ингибирующим действием на репликацию вируса гепатита С в клетках гепатомы человека. В ФГУП «ГосНИИ ОЧБ» ФМБА России (Санкт-Петербург) в 1995 г. разработана лекарственная форма рекомбинантного ИЛ-1 β человека - препарат «Беталейкин®» (№ Р N000222/01 от 20.12.2007), разрешенный к клиническому использованию в качестве иммуностимулятора при вторичных иммунодефицитных состояниях, а также при лечении ХГС (Любзин Ю.В., Жданов К.В. и соавт., 2013). ИФН- γ – препарат «Ингарон» (№ Р ЛС-000924 от 18.11.2005) подавляет репликацию вирусной РНК, синтез вирусных белков и сборку зрелых вирусных частиц, оказывает цитотоксическое воздействие на вирусинфицированные клетки и

блокирует синтез β -TGF, ответственных за развитие фиброза легких и печени. Проведенные в НИИ гриппа РАМН и НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи исследования (Ф.И. Ершов, О.И. Киселев, 2005) позволили заключить, что препарат «Ингарон» обладает выраженной противовирусной активностью в отношении РНК содержащих вирусов. В работе Т.В. Сологуб и др. (2005) показана высокая эффективность сочетанного использования ИФН- γ в дозе 500 тыс. МЕ и ИФН-альфа в дозе 3 млн МЕ через день в течение 8 недель у пациентов с ВИЧ-инфекцией в сочетании с туберкулезом легких и гепатитом С. В литературе имеются единичные работы, посвященные использованию ИФН- γ в терапии ХГС. Так, Katayama K., et. al (2001) применял натуральный ИФН- γ перед стартом ПВТ у больных с 1b генотипом вируса, не ответивших на ранее проводимую ПВТ и сделал вывод об улучшении результатов лечения за счет иммуномодулирующих свойств. Иммуноориентированные препараты с доказанной иммуотропностью в комбинации с этиотропным лечением позволяют избежать возникновения изменчивости и резистентности возбудителя, а также позволяют избежать некоторых НЯ в процессе ПВТ ИФН- α .

4.2.1. Применение различных схем рекомбинантного интерлейкина-1 β в лечении хронического гепатита С у пациентов, неответивших на первичную противовирусную терапию

Мы оценили эффективность и безопасность применения различных схем рекомбинантного ИЛ-1 β («Беталейкин»[®]) в качестве терапии сопровождения при проведении комбинированной ПВТ (ИФН- α и рибавирин) у пациентов с ХГС, неответивших на предыдущее лечение. В исследование было включено 26 пациентов (69% мужчин и 31% женщин) с HCV-1b генотипом, неответивших на первичную ПВТ. Пациенты были разделены на две группы в зависимости от схемы повторной комбинированной терапии и сопоставимы по основным исходным показателям (табл. 4.42 и 4.43). Первичная ПВТ была проведена у 30% больных стандартными ИФН- α 2b, у 70% - Пер-ИФН- α 2a/b в сочетании с рибавирином.

Исходные показатели пациентов с ХГС

Характеристика пациентов	1 группа (n=10)	2 группа (n=16)
Мужчины, n (%)	7 (70)	11(69)
Возраст (годы, M±m)	35,0±2,56	33,0±2,11
Срок инфицирования (годы, M±m)	10,7±1,5	7,63±0,1
ИМТ (M±m)	24,2±1,25	23,0±1,02
Вирусная нагрузка РНК ВГС, n (%)		
- <400000 МЕ/мл	6(60)	7 (44)
- >400000 МЕ/мл	4 (40)	9(56)
АлАТ (M±m), ед/л	59,06±3,7	48,6±5,35
Степень фиброза по METAVIR, n(%)<F3	10 (100%)	16(100%)
Первичная комбинированная ПВТ (ИФН-α и рибавирин):		
- стандартные ИФН-α2b	4(40%)	4 (25%)
- Peg-ИФН-α2a, Peg-ИФН-α2b	6(60%)	12(75%)

В исследование не включались: лица с аутоиммунными и другими хроническими декомпенсированными системными заболеваниями; пациенты с микст-гепатитами; с циррозом печени, а также имеющие степень фиброза больше F3 (по результатам фиброэластометрии по шкале METAVIR); больные с алкогольной болезнью или принимающие алкоголь, ПАВ; с нейтропенией <1500 кл/мкл, тромбоцитопенией <90 тыс. кл/мкл, низкой концентрацией гемоглобина для женщин - <120 г/л, для мужчин - <130 г/л, а также беременные и кормящие женщины; мужчины, имеющие беременных половых партнеров.

При исследовании цитокинового профиля у пациентов до лечения значения ИЛ-1β были достоверно ниже по сравнению с показателями здоровых лиц (5,20±2,12 и 11,51±2,4 пкг/мл, p<0,05, соответственно) без статистических различий между группами, что способствовало формированию показаний к назначению препарата «Беталейкин®».

В последние годы ведется поиск предикторов эффективности ПВТ. Наряду с вирусной нагрузкой, генотипом вируса, стадией фиброза, все большее внимание клиницистов привлекает возможность персонализированного подхода к лечению заболевания, основанного на проведении генотипирования самого хозяина, и таким образом, определения предрасположенности к исходу терапии.

Схемы комбинированной ПВТ ХГС с применением ИЛ-1 β у пациентов с ВГС-моноинфекцией

І группа (n=10)	ІІ группа (n=16)
Стандартный ИФН- α 2b («ИНТЕРАЛЬ-П» [®]) по 5 млн МЕ/сут. в течение 12 недель, затем по 5 млн. МЕ/сут. через день до окончания терапии. Курс 48 недель.	Стандартный ИФН- α 2b («ИНТЕРАЛЬ-П» [®]) по 3 млн МЕ/сут. через день в течение 48 недель.
РИБАВИРИН: 15мг/кг/сут. (800-1200 мг/сут.)	РИБАВИРИН по 1000 мг/сут. (для массы тела <75 кг) и по 1200 мг/сут. (для массы тела >75 кг)
ИЛ-1 β («БЕТАЛЕЙКИН» [®]) по 0,005 мкг/кг подкожно через день в течение первых 12 недель (45 инъекций)	ИЛ-1 β («БЕТАЛЕЙКИН» [®]) - 10 подкожных инъекций по 0,005 мкг/кг через день, всего 5 курсов по 3 недели (50 инъекций)

В ходе проведенного генетического анализа (рис. 4.36) выявлено (см. главу 6), что в 1-ой группе все больные имели неблагоприятные генотипы по ИЛ-28В, а во 2-ой – благоприятный генотип СС полиморфизма rs12979860 отмечен лишь у одного пациента (6,3%).

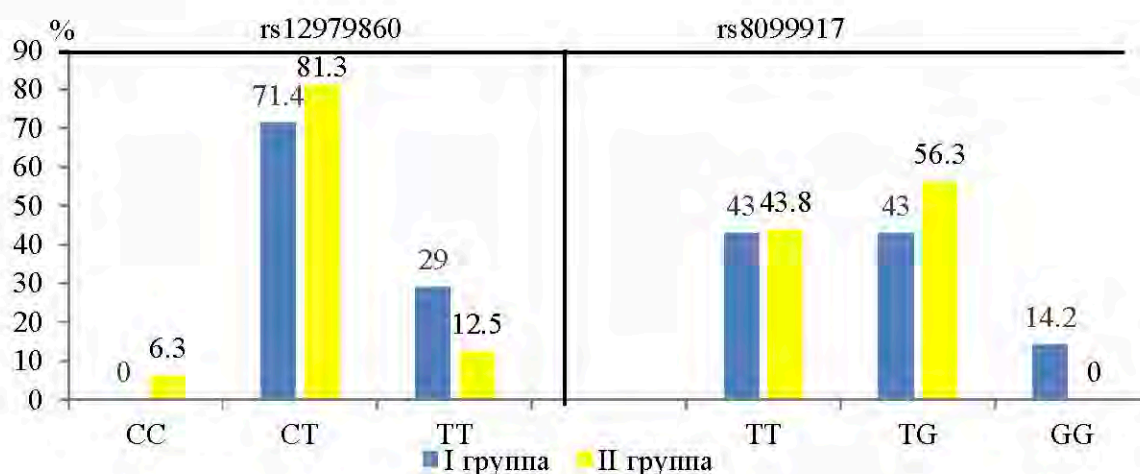


Рис. 4.36 Частота распределения генотипов СС, СТ, ТТ (rs12979860) и ТТ, ТГ, ГГ (rs8099917) у пациентов с ВГС-моноинфекцией

Динамика вирусологического ответа представлена на рис. 4.37. Быстрый вирусологический ответ получен у 22,2% больных в 1-ой группе и у 6,3% во 2-ой; ранний вирусологический ответ - у 55,6% и 56,0% пациентов, соответственно; СВО достигнут у 44,4% больных 1-ой и 31,3% - 2-ой группы. Опираясь на литературные данные (Кузнецов Н.И., и др., 2006; Симбирцев А.С., 2011), мы предполагаем, что применение рекомбинантного ИЛ-1 β в комбинированной ПВТ больных ХГС способствует отмене блокирующего действия вируса гепатита С на биологическую активность ИФН- α . Индукционный метод введения стандартного ИФН- α сохраняет оптимальный баланс между противовирусной активностью и длительностью периода полувыведения стандартных ИФН- α , способствуя повышению вирусологического ответа.

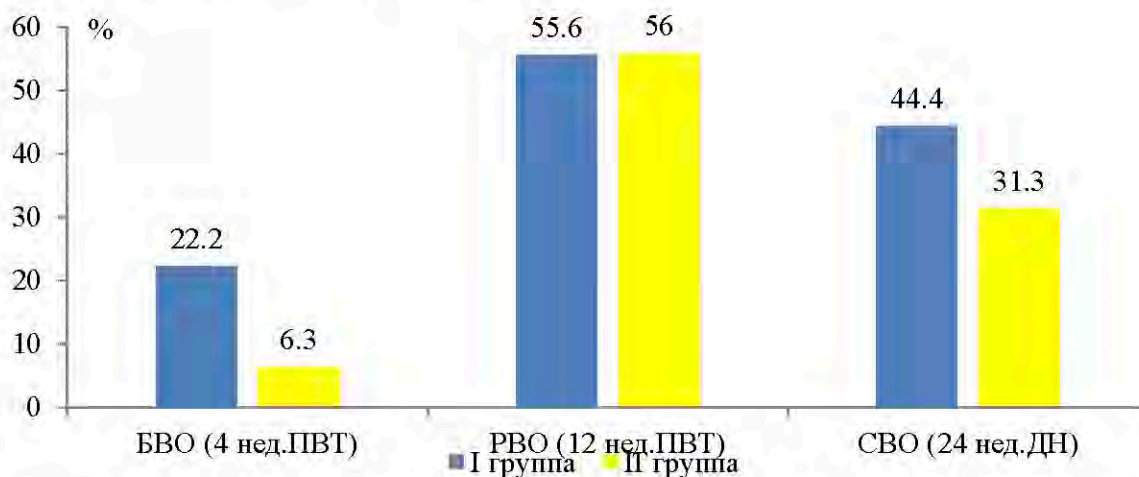


Рис. 4.37 Динамика вирусологического ответа на комбинированную ПВТ ХГС с использованием ИЛ-1 β у пациентов с ВГС-моноинфекцией

Результат СВО на повторную ПВТ зависит от варианта ответа на предыдущее лечение. Анализ структуры СВО в исследуемых группах в зависимости от вирусологического ответа при первичной ПВТ, который определялся наличием РНК ВГС в крови больных при исследовании в контрольных точках – 12, 24 и 48 нед – на фоне первичной ПВТ показал, что существенно хуже были результаты при исходном «нулевом» ответе (в 1-ой группе – у 25% пациентов, во 2-ой – отсутствовал) по сравнению с пациентами, имевшими частичный ответ (в 1-ой

группе – у 100%, во 2-ой – у 50% больных) или рецидив (50% и 43%, соответственно) при первичной ПВТ.

Показатели АлАТ (рис. 4.38) до начала ПВТ были достоверно выше ($p < 0,001$) уровня здоровых лиц в обеих группах. К 4 неделе терапии уровень АлАТ в первой группе составил $37,9 \pm 4,65$ ед/л, во второй – $27,1 \pm 4,22$ ед/л; на 24 неделе ПВТ: $24,43 \pm 4,08$ ед/л и $23,62 \pm 3,39$ ед/л, соответственно. На 48 неделе лечения у всех пациентов значения АлАТ достигали уровня здоровых лиц.

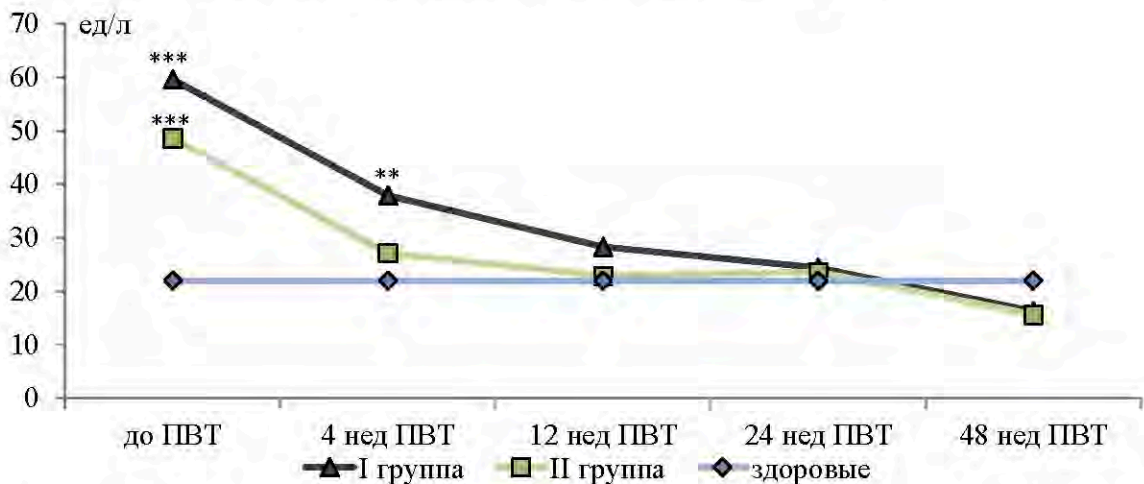


Рис. 4.38 Показатели АлАТ до начала и на фоне комбинированной ПВТ ХГС с использованием ИЛ-1β у пациентов с ВГС-моноинфекцией

Примечание: ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ - сравнение достоверности с показателем здоровых лиц.

Мы провели анализ показателей периферической крови в исследуемых группах. До начала ПВТ показатели периферической крови пациентов не отличались от уровня здоровых лиц. На фоне противовирусного лечения миелосупрессивный эффект наблюдался по всем исследуемым параметрам крови в обеих группах, который не потребовал снижения доз препаратов или отмены терапии. В 1-ой группе, где пациенты получали индукционный метод терапии ИФН-α2b, к 12 неделе лечения отмечается достоверное снижение ($p < 0,01$) лейкоцитов с дальнейшим повышением к его окончанию, в отличие от пациентов 2-ой группы, где наблюдалось более постепенное снижение показателей как лейкоцитов (рис.4.39), так и нейтрофилов (рис.4.40).

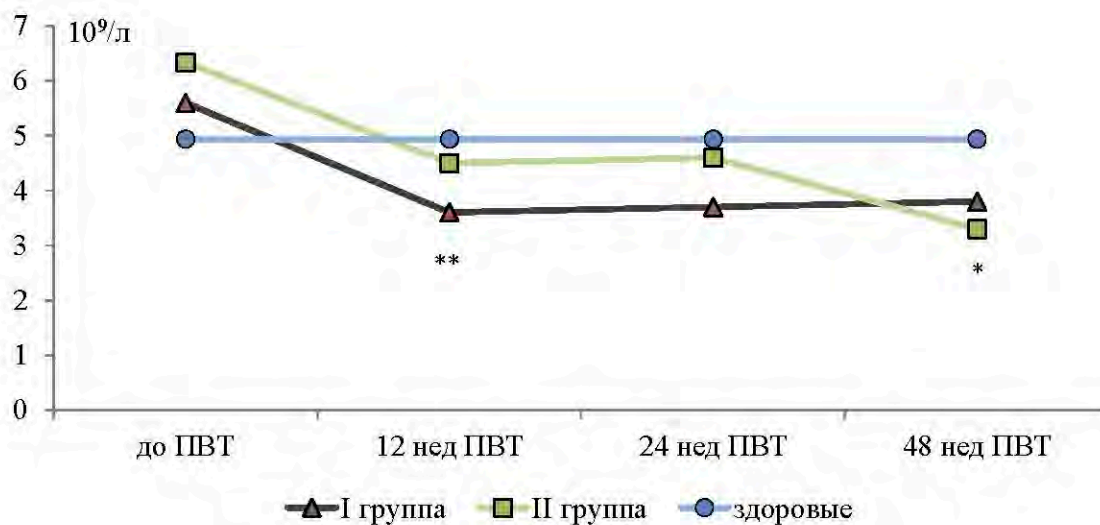


Рис. 4.39 Динамика показателей лейкоцитов до начала и на фоне комбинированной ПВТ ХГС с использованием ИЛ-1 β у пациентов с ВГС-моноинфекцией

Примечание: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ - сравнение достоверности с показателем эдоровых лиц.

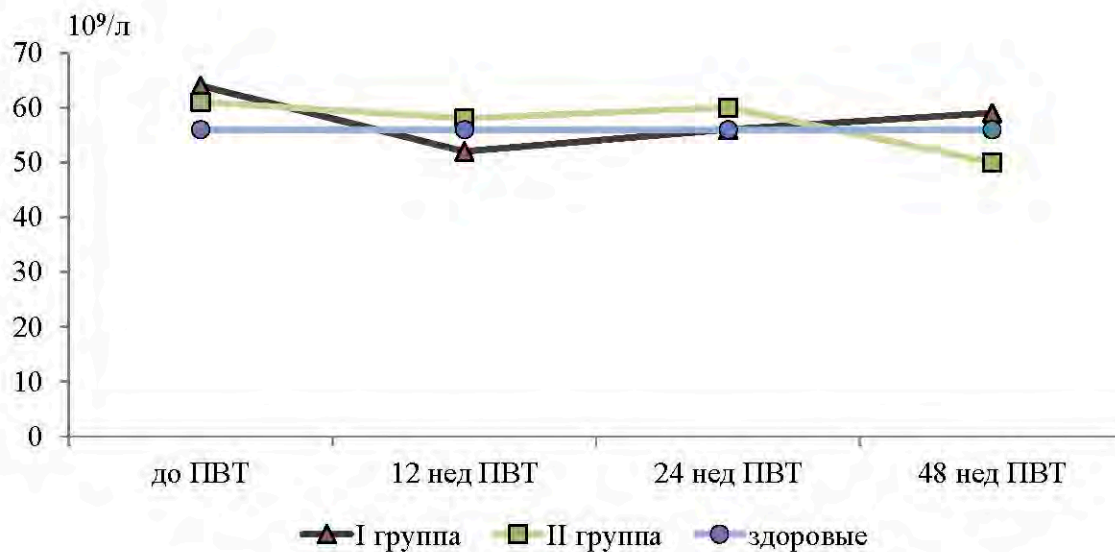


Рис. 4.40 Динамика показателей нейтрофилов до начала и на фоне комбинированной ПВТ ХГС с использованием ИЛ-1 β у пациентов с ВГС-моноинфекцией

Анемия регистрировалась с 12 недели терапии и сохранялась в течение всего курса лечения у пациентов обеих групп (рис. 4.41 и 4.42); отмечалось достоверное ($p < 0,05$) снижение эритроцитов и гемоглобина ($p < 0,01$) на фоне ПВТ.

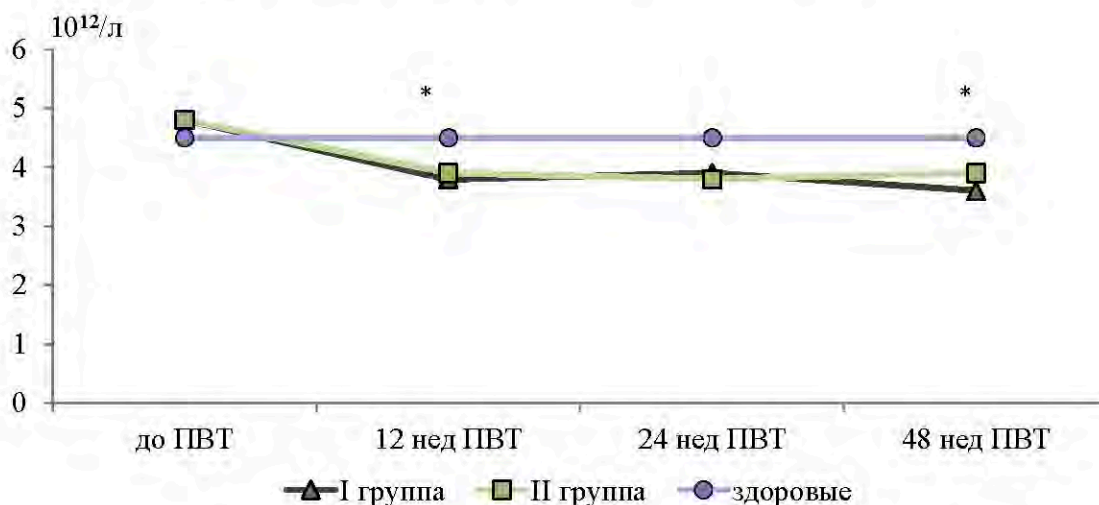


Рис. 4.41 Динамика показателей эритроцитов до начала и на фоне комбинированной ПВТ ХГС с использованием ИЛ-1 β у пациентов с ВГС-моноинфекцией

Примечание: * $p < 0,05$ - сравнение достоверности с показателем здоровых лиц.

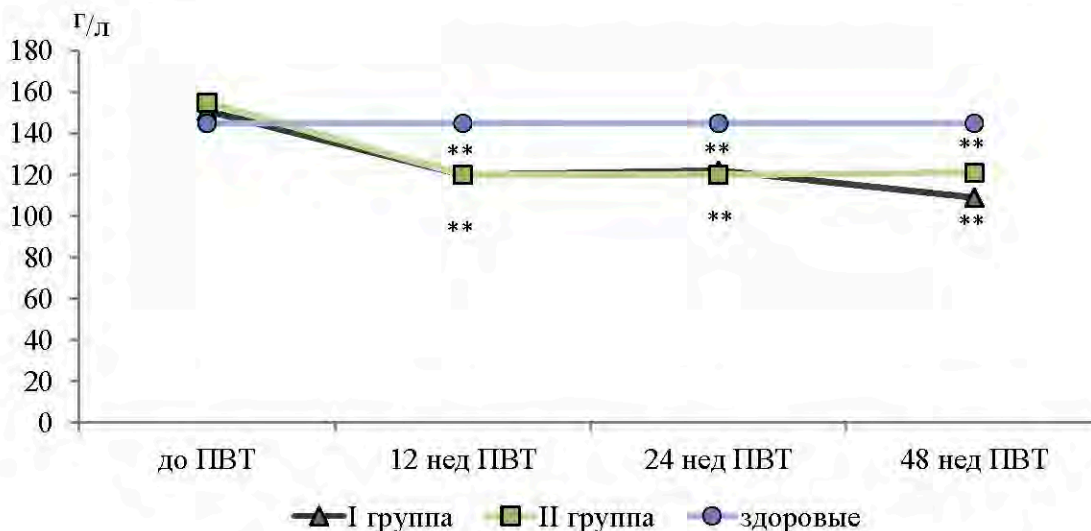


Рис. 4.42 Динамика показателей гемоглобина до начала и на фоне комбинированной ПВТ ХГС с использованием ИЛ-1 β у пациентов с ВГС-моноинфекцией

Примечание: ** $p < 0,01$ - сравнение достоверности с показателем здоровых лиц.

Необходимо отметить, что к 24 неделе диспансерного наблюдения все пациенты, достигшие СВО, имели показатели лейкоцитов, эритроцитов и гемоглобина не отличающиеся от уровня здоровых.

Особая динамика тромбоцитов наблюдалась в 1-ой группе, где исходный уровень показателей был достоверно ($p < 0,05$) ниже уровня здоровых лиц, такая же тенденция сохранялась до 12 недели лечения. Затем число тромбоцитов стало увеличиваться и к 48 неделе превысило уровень здоровых ($p < 0,05$). У пациентов 2-ой группы не отмечалось достоверного снижения числа тромбоцитов по сравнению с исходными данными ни на одном сроке терапии (рис. 4.43).

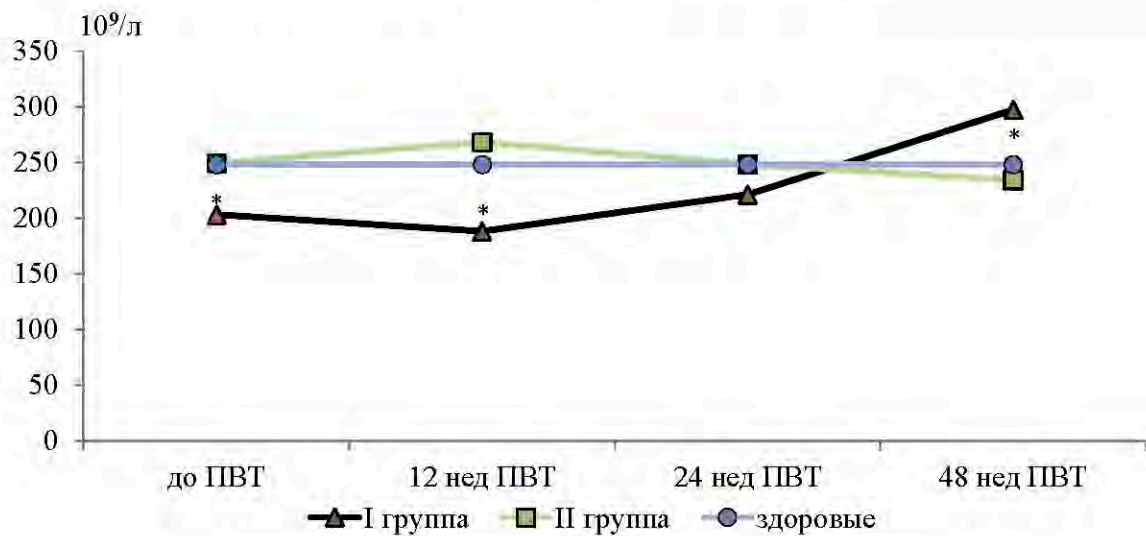


Рис. 4.43 Динамика показателей тромбоцитов до начала и на фоне комбинированной ПВТ ХГС с использованием ИЛ-1 β у пациентов с ВГС-моноинфекцией

Примечание: * $p < 0,05$ - сравнение достоверности с показателем здоровых лиц.

Представленные выше результаты лабораторного мониторинга состояния пациентов свидетельствуют о безопасности включения рекомбинантного ИЛ-1 β в комплексную повторную ПВТ пациентов с ХГС. Выявленные гематологические изменения закономерны и соответствуют НЯ, указанным в инструкциях по применению препаратов ИФН- $\alpha 2b$ и рибавирин.

Сравнительный анализ в зависимости от применяемой схемы терапии выявил близкую частоту регистрации НЯ у пациентов обеих групп (рис. 4.44 и 4.45). В исследовании не выявлено ни одного случая серьезной нежелательной реакции (НР) или непредвиденной НР. У всех больных выявлялся гриппоподобный синдром разной степени выраженности, который соответствует описанным побочным эффектам в инструкциях по медицинскому применению препаратов «Интераль-П®» и «Беталейкин®». Снижение массы тела >5% отмечалось у 95% пациентов в первой группе и у 92% во второй, нервно-психические нарушения (раздражительность, бессонница, сонливость и т.д.) зафиксированы у 66% и 62% больных, соответственно. В области подкожного введения рекомбинантного ИЛ-1 β через 4-6 часов, как правило, появлялись гиперемия, болезненность и слабо выраженный инфильтрат, которые не являлись проявлением инфицирования и не требовали врачебного вмешательства. Выраженные НЯ (гриппоподобный синдром, местная реакция на введение «Беталейкина®») купировались после назначения парацетамола или нестероидных противовоспалительных препаратов.

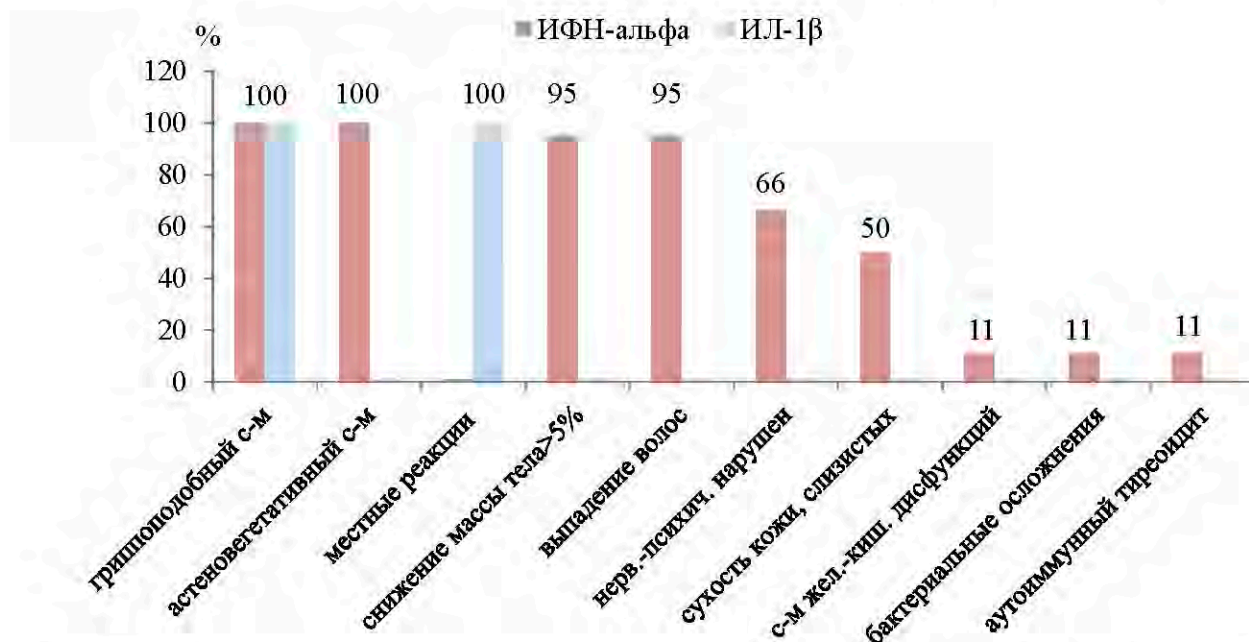


Рис. 4.44 Частота выявления нежелательных явлений на фоне комбинированной ПВТ ХГС с использованием ИЛ-1 β у пациентов с HCV-моноинфекцией в I группе

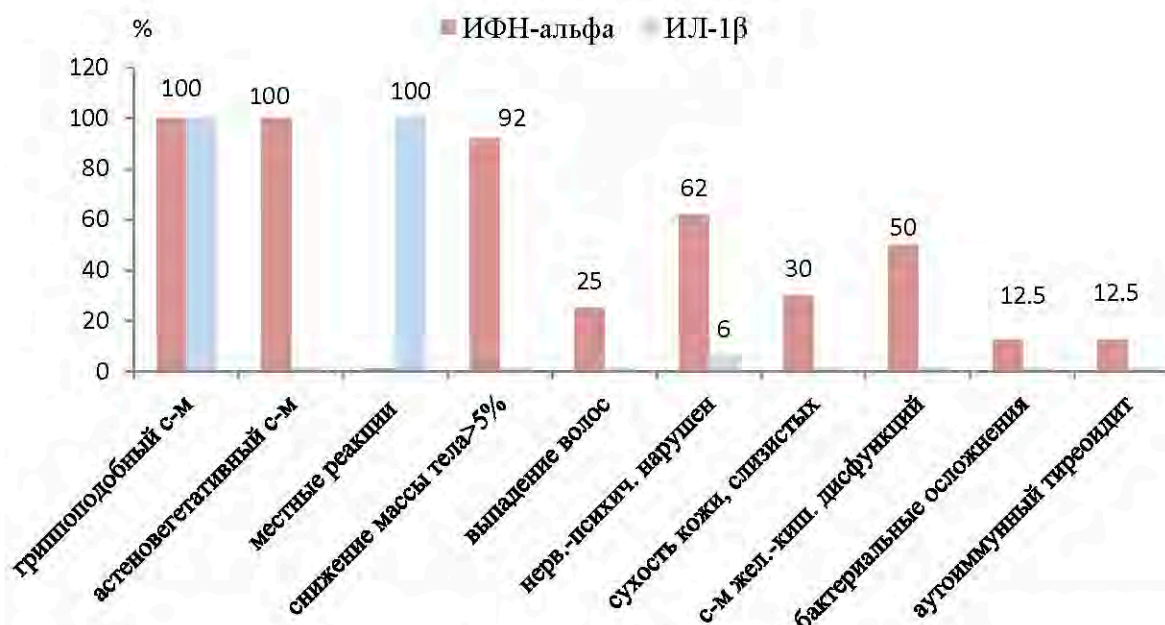


Рис. 4.45 Частота выявления нежелательных явлений на фоне комбинированной ПВТ ХГС с использованием ИЛ-1β у пациентов с ВГС-моноинфекцией в II группе

Далее мы оценили эффективность и безопасность применения ИЛ-1β в качестве терапии сопровождения при проведении комбинированной ПВТ пациентов ХГС, неответивших на предыдущее лечение, независимо от схем назначения препаратов ИФН-α2b и ИЛ-1β. В исследование было включено 29 пациентов (72% мужчин и 28% женщин) с HCV-1b, неответивших на первичную ПВТ (табл. 4.44). В ходе проведенного генетического анализа выявлено, что все больные имели неблагоприятные генотипы ИЛ-28В, благоприятный генотип СС полиморфизма rs12979860 отмечен лишь у одного пациента (3,9%). Десять пациентов получали ПВТ по схеме: рекомбинантный ИФН-α2b («Интераль-П®») по 5 млн. МЕ ежедневно, подкожно (п/к) в течение 12 недель, затем через день по 5 млн. МЕ до окончания лечения в сочетании с рибавирином 10-15 мг/кг/сут. per os и ИЛ-1β («Беталейкин®») п/к по 0,005 мкг/кг через день в течение первых 12 недель лечения (всего на курс - 45 инъекций). Девятнадцать исследуемых получали ПВТ по схеме: стандартный ИФН-α2b («Интераль-П®») по 3 млн МЕ/сут. через день в течение 48 недель, рибавирин по 1000 мг/сут. (для массы тела <75 кг) и по 1200 мг/сут. (для массы тела >75 кг). В качестве терапии сопровождения

применялся ИЛ-1 β («Беталейкин®») - 10 подкожных инъекций по 0,005 мкг/кг через день, всего 5 курсов по 3 недели (50 инъекций).

В исследование не включались: лица с аутоиммунными и другими хроническими декомпенсированными системными заболеваниями; пациенты с микст-гепатитами; с циррозом печени, а также имеющие степень фиброза больше F3 (по результатам фиброэластометрии по шкале METAVIR); больные с алкогольной болезнью или принимающие алкоголь, ПАВ; с нейтропенией <1500 кл/мкл, тромбоцитопенией <90 тыс. кл/мкл, низкой концентрацией гемоглобина для женщин - <120 г/л, для мужчин - <130 г/л, а также беременные и кормящие женщины; мужчины, имеющие беременных половых партнеров.

Таблица 4.44

Исходные показатели пациентов

Характеристика пациентов	n=29
Мужчины, n (%)	21 (72 %)
Возраст (годы, M $\pm$ m)	35,24 $\pm$ 1,71
Срок инфицирования (годы, M $\pm$ m)	8,79 $\pm$ 0,71
ИМТ (M $\pm$ m)	23,58 $\pm$ 0,77
Вирусная нагрузка РНК ВГС, n (%)	
-<400000 МЕ/мл	14 (48,3%)
->400000 МЕ/мл	15 (51,7%)
АЛТ (M $\pm$ m), ед/л	58,84 $\pm$ 5,21
Степень фиброза по METAVIR, n (%) <F3	29 (100%)
Первичная комбинированная ПВТ (ИФН- α и рибавирин):	
- стандартные ИФН- α 2b	9 (31%)
- Пег-ИФН- α 2a, Пег-ИФН- α 2b	20 (69%)
Генотипы по ИЛ-28В, локусы rs12979860 и rs8099917:	
-СТ TG	11 (42,3%)
- СТ TT	10 (38,5%)
- TT TG	3 (11,5%)
- TT GG	1 (3,9%)
- CC TT	1 (3,9%)

Быстрый вирусологический ответ на 4 неделе лечения при повторной ПВТ получен у 3 (10,3%) больных, РВО наблюдался у 15 (55,6%) пациентов, СВО достигнут у 9 (36%) больных (табл. 4.45). Первичную терапию стандартными ИФН- α в комбинации с рибавирином получали 31%, пегилированными ИФН- α - 69% пациентов. СВО в зависимости от схемы первичной терапии был выше (50%) у пациентов, которые получали стандартные ИФН- α в комбинации с рибавирином.

Известно, что результат СВО на повторную ПВТ зависит от варианта ответа на предыдущее лечение. Анализ структуры СВО в исследуемой группе в зависимости от вирусологического ответа при первичной ПВТ, который определялся наличием РНК ВГС в крови больных при исследовании в контрольных точках – 4, 12, 24 и 48 нед. – на фоне первичной ПВТ показал, что существенно хуже были результаты при исходном «нулевом» ответе (11%) по сравнению с пациентами, имевшими частичный ответ (60%) или рецидив (45,5%) при предыдущей терапии.

Таблица 4.45

Варианты вирусологического ответа на первичную и повторную ПВТ

Показатель	БВО		РВО		Ответ на 24 неделе		Ответ на 48 неделе		СВО	
	есть	нет	есть	нет	есть	нет	есть	нет	есть	нет
Количество пациентов (n=29)	3(10,3)	26(89,7)	15(55,6)	12(44,4)	15(55,6)	12(44,4)	13(52,0)	12(48,0)	9(36,0)	16(64,0)
Схема первичной ПВТ:										
ИФН- α +РБВ (n=9)	3(33,3)	6(66,7)	6(66,7)	3(33,3)	5(55,6)	4(44,4)	6(75)	2(25)	4(50)	4(50)
ПерИФН- α +РБВ (n=20)	-	20(100)	9(47,4)	10(52,6)	10(52,6)	9(47,4)	8(44,4)	10(55,6)	5(29,4)	12(70,6)
Варианты ответа при первичной ПВТ:										
«Нулевой» ответ (n=11)	1(9,0)	10(91,0)	3(27,0)	8(73,0)	2(18,0)	9(82,0)	3(33,3)	6(66,7)	1(11,0)	8(89,0)
Частичный ответ (n=5)	1(20,0)	4(80,0)	5(100)	-	5(100)	-	2(40,0)	3(60,0)	3(60,0)	2(40,0)
Рецидив (n=13)	1(7,8)	12(92,2)	7(58,0)	5(42)	8(66,7)	4(33,3)	6(54,5)	5(45,5)	5(45,5)	6(54,5)

Определение цитокинов их количественные характеристики и соотношения между собой, как правило, отражают динамику патологического процесса, коррелируют с активностью заболевания и позволяют судить об эффективности проводимого лечения. Биологический эффект цитокинов универсален при действии различных патогенных факторов, поэтому мы исследовали уровни двух основных провосполительных (ИЛ-1 β и ФНО-альфа) в группе «неотвечиков» при проведении терапии сопровождения «Беталейкином®», которые секретируются соответственно Th1-хелперными клетками и макрофагами (Alvarado Esquivel C. et al., 2002; Kakimi K., 2003) и играют центральную роль в развитии хронического воспаления. Кроме того, способностью секретировать ФНО-альфа обладают Т- и В-лимфоциты, фибробласты, НК-клетки, кератиноциты, нейтрофилы.

Биологические эффекты ФНО- α во многом зависят от его концентрации; низкий уровень продукции цитокина необходим для поддержания противоопухолевой и противовирусной активности, ограничения размера пула лимфоцитов путем индукции апоптоза, значительное повышение уровня ФНО- α , как правило, сопряжено с реакцией повреждения и воспаления, а сверхвысокие концентрации – с развитием тяжелых генерализованных расстройств, полиорганной недостаточностью (Приймаги Л.С., 2002; Симбирцев А.С., 2004; Rosen H.R., 2003; Yoshioka K. et al., 1999; Yuan A.L., 1994). Одним из сильнейших стимулов для продукции ИЛ-1 является ФНО- α , но ИЛ-1 также может стимулировать продукцию ФНО- α (Ройт А., 2000; Ярилин А.А., 1999).

До лечения, при исследовании цитокинового профиля у пациентов, показатели ИЛ-1 β и ФНО-альфа были достоверно ниже по сравнению с данными здоровых лиц ($5,20 \pm 2,12$ и $11,51 \pm 2,4$ пкг/мл, $p < 0,01$) и ($2,59 \pm 0,62$ и $6,32 \pm 2,5$ пкг/мл, $p < 0,01$), при сниженных показателях клеточного иммунитета CD3 $^{+}$, CD4 $^{+}$ и CD8 $^{+}$ (абс. число и %), на фоне повышения нейтрофилов, NK-клеток и В-лимфоцитов (абс. число и %), табл. 4.46 и 4.47. Цитокиновый статус пациентов, неответивших на ПБТ ($n=16$), характеризовался исходными достоверно низкими показателями ИЛ-1 β ($2,21 \pm 1,1$ и $11,51 \pm 2,4$ пкг/мл, $p < 0,001$) и ФНО-альфа ($1,31 \pm 1,01$ и $6,32 \pm 2,5$ пкг/мл, $p < 0,001$) по сравнению с данными здоровых и ответившими на лечение ($2,21 \pm 1,1$ и $5,20 \pm 2,12$ пкг/мл, $p < 0,01$) и ($1,31 \pm 1,01$ и $2,59 \pm 0,62$ пкг/мл, $p < 0,01$); при этом во второй группе достоверно были выше показатели нейтрофилов ($65,53 \pm 2,38$ и $57,67 \pm 4,41\%$, $p < 0,01$), В-лимфоцитов ($0,270 \pm 0,02$ и $0,240 \pm 0,04 \cdot 10^9/\text{л}$, $p < 0,05$) и ($15,01 \pm 0,1$ и $11,01 \pm 1,08\%$, $p < 0,01$), на фоне низких абсолютных чисел CD3 $^{+}$ ($0,96 \pm 0,09$ и $1,20 \pm 0,16 \cdot 10^9/\text{л}$, $p < 0,01$), CD4 $^{+}$ ($0,570 \pm 0,06$ и $0,650 \pm 0,09 \cdot 10^9/\text{л}$, $p < 0,01$) и NK-клеток ($0,270 \pm 0,02$ и $0,350 \pm 0,05 \cdot 10^9/\text{л}$, $p < 0,01$), уровня АлАТ, характеризующего воспаление в печени, ($50,36 \pm 7,22$ и $66,26 \pm 7,01$ ед/л, $p < 0,01$) по сравнению с показателями первой группы. Известно, что у 30–40% больных ХГС активность АлАТ в крови остается в пределах уровня здоровых лиц и характерно медленное прогрессирование заболевания, однако при этом у 1/4 больных по данным пункционной биопсии печени регистрируется прогрессирующее течение

заболевания ($A \geq 2$ и/или $F \geq 2$ по шкале METAVIR). После ПВТ у пациентов, ответивших на лечение, уровни ИЛ-1 β и ФНО-альфа достигли показателей здоровых, у не достигших СВО, остались на низких уровнях при сниженных данных клеточного иммунитета - CD3+ ($1,01 \pm 0,08$ и $1,36 \pm 0,16 \cdot 10^9/\text{л}$, $p < 0,01$), (64,2 $\pm$ 1,06 и 75,03 $\pm$ 1,08%, $p < 0,01$), CD4+ ($0,610 \pm 0,09$ и $0,768 \pm 0,04 \cdot 10^9/\text{л}$, $p < 0,01$) и (36,8 $\pm$ 0,6 и 41,03 $\pm$ 1,08%, $p < 0,05$), CD8+ ($0,470 \pm 0,06$ и $0,565 \pm 0,06 \cdot 10^9/\text{л}$, $p < 0,01$) и (24,81 $\pm$ 2,50 и 29,86 $\pm$ 1,03%, $p < 0,05$), повышенных уровнях нейтрофилов (64,33 $\pm$ 2,08 и 56,7 $\pm$ 3,91%, $p < 0,01$) и В-лимфоцитов ($0,265 \pm 0,02 \cdot 10^9/\text{л}$ и $0,215 \pm 0,08 \cdot 10^9/\text{л}$, $p < 0,01$) и (14,81 $\pm$ 0,13 и 10,91 $\pm$ 1,58%, $p < 0,05$).

Таблица 4.46

Показатели ИЛ-1 β , ФНО-альфа и АлАТ до и после комбинированной ПВТ ХГС с использованием ИЛ-1 β у пациентов с ВГС-моноинфекцией

Показатели	Здоровые 1	До ПВТ 2	После ПВТ 3	Достоверность между группами
ИЛ-1 β (пкг/мл)				
-все пациенты	11,51 $\pm$ 2,4	5,20 $\pm$ 2,12**	6,1 $\pm$ 2,3**	-
-группа 1 (n=9)		5,03 $\pm$ 0,17**	10,24 $\pm$ 2,1	P ₂₋₃ <0,01
-группа 2 (n=16)		2,21 $\pm$ 1,1***	2,05 $\pm$ 1,04***	-
ФНО-альфа (пкг/мл)				
-все пациенты	6,32 $\pm$ 2,5	2,59 $\pm$ 0,62**	3,78 $\pm$ 1,13*	-
-группа 1 (n=9)		3,45 $\pm$ 1,21*	5,93 $\pm$ 2,0	P ₂₋₃ <0,05
-группа 2 (n=16)		1,31 $\pm$ 1,01***	1,62 $\pm$ 1,30**	-
АлАТ (ед/л)				
-все пациенты	23,19 $\pm$ 9,93	58,84 $\pm$ 5,21**	15,73 $\pm$ 1,66**	P ₂₋₃ <0,001
-группа 1 (n=9)		66,26 $\pm$ 7,01*	9,93 $\pm$ 2,01**	P ₂₋₃ <0,001
-группа 2 (n=16)		50,36 $\pm$ 7,22***	12,48 $\pm$ 3,30**	P ₂₋₃ <0,001

Примечание: группа 1 – пациенты, достигшие СВО, группа 2 – без СВО. * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ - показатели, достоверно отличающиеся от уровня здоровых.

Динамика иммунологических показателей до и после комбинированной ПВТ ХГС с использованием ИЛ-1 β у пациентов с ВГС-моноинфекцией

Показатели	Здоровые n=52	До ПВТ	После окончания ПВТ
	1	2	3
Нейтрофилы, % все пациенты		62,2 $\pm$ 2,19* ¹	58,12 $\pm$ 4,9
группа 1	55,92 $\pm$ 1,65	57,67 $\pm$ 4,41	56,7 $\pm$ 3,91
группа 2		65,53 $\pm$ 2,38* ¹	64,33 $\pm$ 2,08* ¹
Т-лимфоциты, $\cdot 10^9$ /л(CD3+)			
все пациенты	1,37 $\pm$ 0,06	1,08 $\pm$ 0,09* ¹	1,19 $\pm$ 0,06* ¹
группа 1		1,20 $\pm$ 0,16* ¹	1,36 $\pm$ 0,18* ²
группа 2		0,96 $\pm$ 0,09*** ¹	1,01 $\pm$ 0,08* ¹
Т-лимфоциты, %, (CD3+)			
все пациенты	74,05 $\pm$ 1,4	64,21 $\pm$ 1,3*** ¹	69,62 $\pm$ 1,16* ¹
группа 1		65,73 $\pm$ 1,87*** ¹	75,03 $\pm$ 1,08*** ²
группа 2		63,07 $\pm$ 1,97*** ¹	64,2 $\pm$ 1,06*** ¹
Т-хелп./индукт., $\cdot 10^9$ /л, (CD4+)			
все пациенты	0,76 $\pm$ 0,04	0,600 $\pm$ 0,05*** ¹	0,689 $\pm$ 0,03*** ¹
группа 1		0,650 $\pm$ 0,09*** ¹	0,768 $\pm$ 0,04*** ²
группа 2		0,570 $\pm$ 0,06*** ¹	0,610 $\pm$ 0,09*** ¹
Т-хелп./индукт., %, (CD4+)			
все пациенты	42,59 $\pm$ 1,14	36,83 $\pm$ 0,8* ¹	39,42 $\pm$ 0,99*** ²
группа 1		36,0 $\pm$ 2,16* ¹	41,03 $\pm$ 1,08* ²
группа 2		37,0 $\pm$ 1,30* ¹	36,8 $\pm$ 0,6* ¹
Т-супрессоры, $\cdot 10^9$ /л, (CD8+)			
все пациенты	0,57 $\pm$ 0,03	0,400 $\pm$ 0,05*** ¹	0,510 $\pm$ 0,02*** ² * ¹
группа 1		0,450 $\pm$ 0,07* ¹	0,565 $\pm$ 0,06* ²
группа 2		0,440 $\pm$ 0,06* ¹	0,470 $\pm$ 0,06* ¹
Т-супрессоры, %, (CD8+)			
все пациенты	30,81 $\pm$ 1,21	26,01 $\pm$ 1,08* ¹	27,35 $\pm$ 1,01* ¹
группа 1		26,23 $\pm$ 2,03* ¹	29,86 $\pm$ 1,03* ²
группа 2		25,61 $\pm$ 1,30* ¹	24,81 $\pm$ 2,50* ¹
НК-клетки, $\cdot 10^9$ /л, (CD16+)			
все пациенты	0,265 $\pm$ 0,02	0,300 $\pm$ 0,03* ¹	0,266 $\pm$ 0,05
группа 1		0,350 $\pm$ 0,05*** ¹	0,271 $\pm$ 0,03*** ²
группа 2		0,270 $\pm$ 0,02	0,260 $\pm$ 0,08
НК-клетки, %, (CD16+)			
все пациенты	14,41 $\pm$ 1,14	18,51 $\pm$ 1,03* ¹	16,09 $\pm$ 1,58
группа 1		18,10 $\pm$ 1,37* ¹	14,10 $\pm$ 1,45* ²
группа 2		18,0 $\pm$ 1,34* ¹	18,06 $\pm$ 1,04
В-лимф./ак. HLA-DR, $\cdot 10^9$ /л			
все пациенты	0,206 $\pm$ 0,02	0,220 $\pm$ 0,02* ¹	0,235 $\pm$ 0,05*** ¹
группа 1		0,240 $\pm$ 0,04*** ¹	0,215 $\pm$ 0,08*** ²
группа 2		0,270 $\pm$ 0,02*** ¹	0,265 $\pm$ 0,02*** ¹
В-лимф./ак. HLA-DR, %			
все пациенты	11,75 $\pm$ 0,883	13,94 $\pm$ 0,78* ¹	12,84 $\pm$ 1,05
группа 1		11,01 $\pm$ 1,08	10,91 $\pm$ 1,58
группа 2		15,01 $\pm$ 0,1*** ¹	14,81 $\pm$ 0,13* ¹

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$. Цифры у звездочек – номера колонок, сравниваемых показателей. Группа 1 (n=9) – пациенты, достигшие СВО, группа 2 (n=16) – без СВО.

Наряду со стабильным уровнем нейтрофилов в пределах показателей здоровых в течение ПВТ, на фоне приёма «Беталейкина®» у пациентов первой группы восстанавливались ФАН и ФЧ до уровня здоровых лиц (табл. 4.48) и нормализовалась функционально-метаболическая активность нейтрофилов в спонтанном варианте НСТ-теста ($p<0,001$) на фоне сохранения их резервных возможностей (в индуцированном НСТ-тесте).

Таблица 4.48

Динамика показателей фагоцитарной защиты до и после комбинированной ПВТ ХГС с использованием ИЛ-1 β у пациентов с ВГС-моноинфекцией

Показатели	Здоровые n=52 1.	Пациенты ХГС на фоне ПВТ		Достоверность между группами
		до ПВТ 2.	после ПВТ 3.	
ФАН, % все пациенты группа 1 (n=9) группа 2 (n=16)	78,03 $\pm$ 1,94	65,64 $\pm$ 2,44* 65,30 $\pm$ 4,2* 68,67 $\pm$ 2,56*	71,74 $\pm$ 2,33* 77,84 $\pm$ 3,04 65,64 $\pm$ 2,15 *	2-3 - $p<0,05$ 2-3 - $p<0,01$ -
ФЧ, микробных частиц в нейтрофиле все пациенты группа 1 (n=9) группа 2 (n=16)	5,73 $\pm$ 0,32	7,70 $\pm$ 0,4* 8,4 $\pm$ 0,83** 7,73 $\pm$ 0,5*	6,39 $\pm$ 0,75* 5,71 $\pm$ 0,34 7,25 $\pm$ 0,54*	2-3 - $p<0,05$ 2-3 - $p<0,01$ -
НСТ сп, % все пациенты группа 1(n=9) группа 2 (n=16)	9,10 $\pm$ 1,17	22,0 $\pm$ 2,4** 23,63 $\pm$ 4,28** 22,12 $\pm$ 2,85**	13,57 $\pm$ 2,46* 8,96 $\pm$ 2,04 18,06 $\pm$ 1,76 **	2-3 - $p<0,01$ 2-3 - $p<0,001$ -
НСТ ст, % все пациенты группа 1 (n=9) группа 2 (n=16)	40,12 $\pm$ 3,88	42,62 $\pm$ 3,16 46,67 $\pm$ 6,08** 43,88 $\pm$ 4,01*	41,41 $\pm$ 2,21 40,01 $\pm$ 3,53 42,81 $\pm$ 3,03	- 2-3 - $p<0,01$ -

Примечание: * $p<0,05$, ** - $p<0,01$ – показатели, достоверно отличающиеся от уровня здоровых. Группа 1 – пациенты, достигшие СВО, группа 2 – без СВО.

Анализ НЯ при применении ИФН- α и ИЛ-1 β в ходе ПВТ представлен в табл. 4.49. В исследовании не выявлено ни одного случая серьезной НР или непредвиденной НР. У всех больных наблюдались гриппоподобный синдром (повышение температуры тела, головная боль, артралгии и миалгии) разной степени выраженности и местные реакции на введение ИЛ-1 β . Снижение массы тела $>5\%$ отмечалось у 94% пациентов, выпадение волос и нервно-психические

нарушения (раздражительность, бессонница, сонливость и т.д.) зафиксированы у 60% и 64% больных, соответственно.

Таблица 4.49

Частота развития нежелательных явлений на фоне комбинированной ПВТ ХГС с использованием ИЛ-1 β у пациентов с ВГС-моноинфекцией

Нежелательные явления	ИФН- α 2в (%)	ИЛ-1 β (%)
Гриппоподобный синдром	100	100
Астеновегетативный	100	0
Выпадение волос	60	0
Снижение массы тела	93,5	0
Сухость кожи и слизистых оболочек	40	0
Местные реакции	0	100
Нервно-психические нарушения	64	6
Синдром желудочно-кишечных дисфункций	30,5	0
Аутоиммунный тиреоидит	11,75	0

До начала ПВТ показатели периферической крови не отличались от уровня здоровых лиц, за исключением данных тромбоцитов (рис. 4.46 - 4.48), однако далее на фоне лечения не наблюдалось достоверного снижения числа тромбоцитов по сравнению с исходными данными ни на одном сроке контроля, а с 24 нед. показатель достоверно не отличался от уровня здоровых. На фоне противовирусного лечения миелосупрессивный эффект наблюдался по всем исследуемым параметрам крови, однако, имела место более "мягкая" тенденция к снижению этих величин, неприводящая к отмене или снижению доз препаратов. Следует отметить, что у пациентов не отмечалось достоверного снижения числа нейтрофилов по сравнению с данными здоровых лиц ни на одном сроке терапии. К 24 неделе диспансерного наблюдения у пациентов, достигших СВО, показатели лейкоцитов, эритроцитов и гемоглобина не отличались от значений здоровых.

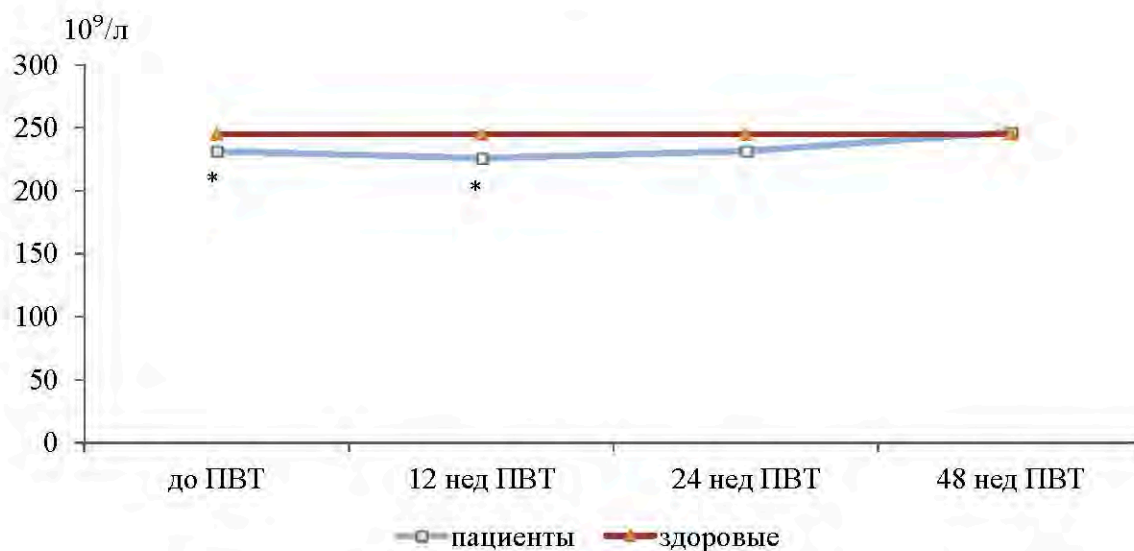


Рис. 4.46 Динамика показателей тромбоцитов до и на фоне комбинированной ПВТ ХГС с использованием ИЛ-1 β у пациентов с ВГС-моноинфекцией

Примечание: * ($p < 0,05$) - показатели, достоверно отличающиеся от уровня здоровых лиц

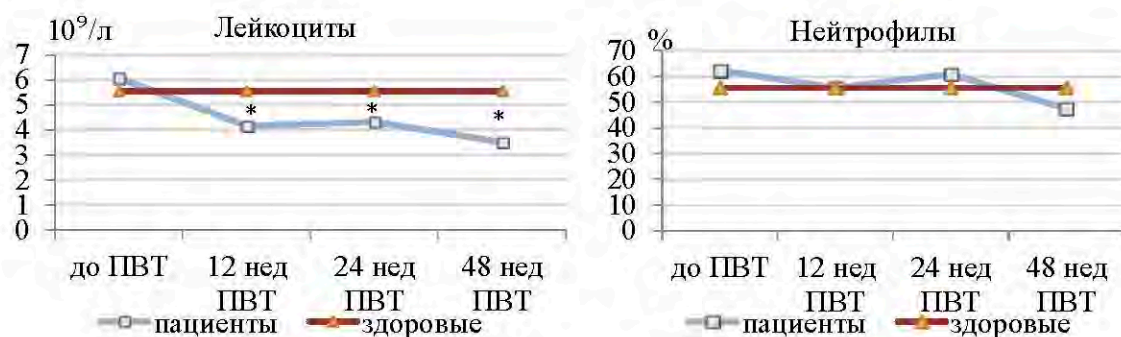


Рис. 4.47 Динамика показателей лейкоцитов и нейтрофилов до и на фоне комбинированной ПВТ ХГС с использованием ИЛ-1 β у пациентов с ВГС-моноинфекцией

Примечание: * ($p < 0,05$) - показатели, достоверно отличающиеся от уровня здоровых лиц.

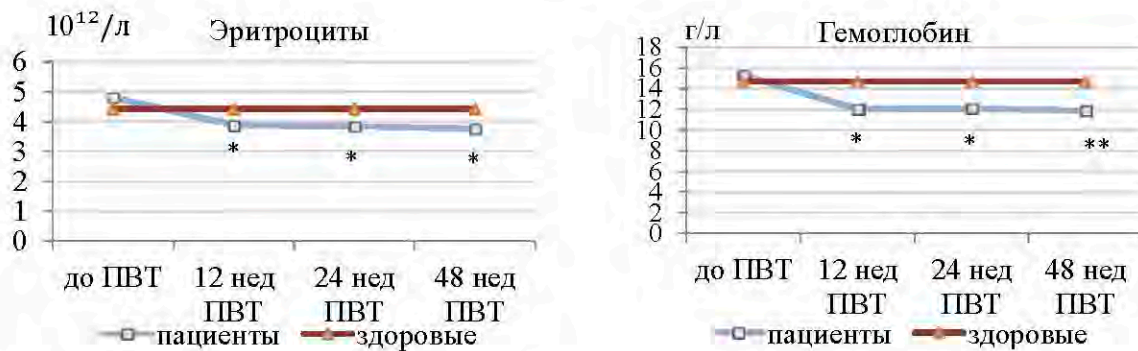


Рис. 4.48 Динамика показателей эритроцитов и гемоглобина до и на фоне комбинированной ПВТ ХГС с использованием ИЛ-1 β у пациентов с ВГС-моноинфекцией

Примечание: * ($p < 0,05$), ** ($p < 0,01$) - показатели, достоверно отличающиеся от уровня здоровых лиц.

Далее приводится 2 клинических случая пациентов из исследуемой группы. Пациент Ш., 18 лет. Из эпидемиологического анамнеза: впервые антитела к ВГС были обнаружены в 9 лет (1999 г). В 3-летнем возрасте оперирован по поводу инвагинации кишечника, осложненной перитонитом. За время диспансерного наблюдения с 2000 года периодически предъявлял жалобы на слабость, боли в области правого подреберья, отмечалось волнообразное повышение уровня АЛАТ до 2N. В 2009 г. выставлен DS: Хронический вирусный гепатит С, с высокой репликативной активностью (РНК ВГС 810 000 коп/мл, 1b генотип), со слабовыраженным воспалительным процессом (повышение АЛАТ до 2N). Назначена ПВТ по схеме: Пег-ИФН- α 2а 180 мкг/нед и рибавирин 800 мг/сут. в течение 48 недель. Исходные данные до начала терапии: ИМТ-19,5 кг/м²; уровень АЛАТ, протеинограмма, ОАК, ОАМ - в пределах уровня здоровых. УЗИ ОБП: Дискинезия желчевыводящих путей. При объективном осмотре: отмечалось увеличение печени на 0,5 см из-под края реберной дуги, край плотно-эластической консистенции, подвижный, безболезненный. Консультирован смежными специалистами (терапевт, эндокринолог, окулист, психиатр) – противопоказаний к проведению ПВТ нет.

Вирусологический ответ на фоне лечения: БВО – не получен; РВО, ВО на 24 и 48 неделях - получены. На 12 неделе диспансерного наблюдения возник рецидив.

НЯ на фоне терапии: на первые 2 инъекции Пег-ИФН- α 2а отмечался гриппоподобный синдром (повышение температуры тела до 39⁰С, артралгии); далее пациент предъявлял жалобы на слабость, изменение настроения, раздражительность. Гематологические НЯ: на 4-12 неделях развилась лейкопения ($3,11 \cdot 10^9/\text{л}$ - $2,81 \cdot 10^9/\text{л}$) и нейтропения ($1,3 \cdot 10^9/\text{л}$ - $1,0 \cdot 10^9/\text{л}$) II степени тяжести; тромбоцитопения ($144,0 \cdot 10^9/\text{л}$ - $126,0 \cdot 10^9/\text{л}$), которая сохранялась до 24 недели ПВТ ($150,0 \cdot 10^9/\text{л}$). Коррекция выявленных гематологических изменений не проводилась. В 2010 г. больной взят на повторную терапию (Ст-ИФН- α 2b - «Интераль-П®» по 3 млн. МЕ/сут. через день; рибавирин по 1000 мг/сут в течение 48 недель) с препаратом сопровождения - ИЛ-1 β («Беталейкин®») - 10 подкожных инъекций по 0,005 мкг/кг через день, всего 5 курсов по 3 недели (50 инъекций). Исходные данные до начала терапии: низкая вирусная нагрузка – РНК ВГС 350000 коп/мл; ИМТ-19,8 кг/м²; F-0 (4,4 кПа) по METAVIR; уровень АлАТ - 30,1 ед/л; протеинограмма, ОАК, ОАМ в пределах уровня здоровых лиц. Генотипирование по ИЛ-28В – TT(rs12979860)/TG(rs8099917); УЗИ ОБП: Дискинезия желчевыводящих путей. При объективном осмотре: отмечалось увеличение печени на 1,0 см из-под края реберной дуги, край плотно-эластической консистенции, подвижный, безболезненный. Консультирован смежными специалистами (терапевт, эндокринолог, окулист, психиатр) – противопоказаний к проведению ПВТ нет. Вирусологический ответ на фоне лечения: БВО – не получен, РВО, ВО на 24 и 48 неделях - получены. На 24 неделе диспансерного наблюдения РНК-НСV не определялась. СВО сохраняется на протяжении 3 лет (последний отрицательный результат ПЦР на РНК РНК от 15.07.14 г.). НЯ на фоне терапии: на первые 2 инъекции ИФН- α 2b отмечался гриппоподобный синдром (повышение температуры тела до 38⁰С, слабость, головная боль); далее больной предъявлял жалобы на слабость, снижение аппетита, сонливость, выпадение волос, сухость кожных покровов и слизистых. На инъекции ИЛ-1 β отмечал субфебрильную температуру в течение нескольких часов после введения препарата, местно: болезненность и гиперемию. На 20 неделе ПВТ консультирован эндокринологом, выставлен DS: Субклинический гипотиреоз. Гематологические НЯ: на 24-48

неделях лечения отмечались лейкопения ($3,1 \cdot 10^9/\text{л}$ - $2,7 \cdot 10^9/\text{л}$) и нейтропения ($1,6 \cdot 10^9/\text{л}$ - $1,4 \cdot 10^9/\text{л}$) I-II степени тяжести, которые не требовали коррекции доз препаратов или отмены терапии.

Пациент У., 30 лет. Из эпидемиологического анамнеза: впервые антитела к ВГС были обнаружены в 2008 г. В 1998 г. (19 лет) – употребление ПАВ внутривенно. Взят на диспансерный учет в 2009 г.: жалоб нет, при объективном осмотре – увеличение размеров печени на 1,5-2,0 см из-под края реберной дуги, уровень АлАТ в пределах уровня здоровых. Выставлен DS: Хронический вирусный гепатит С, с высокой репликативной активностью (РНК ВГС 834 500 коп/мл, 1b генотип), со слабовыраженным воспалительным процессом. Назначена ПВТ по схеме: ИФН- $\alpha 2b$ 5 млн МЕ/сут. и рибавирин 1000 мг/сут. Исходные данные до начала терапии: ИМТ-20,7 кг/м²; F-0 (4,0 кПа) по METAVIR; уровень АлАТ повышен до 2,5N (53,7 ед/л); протеинограмма, ОАК, ОАМ - в пределах уровня здоровых. УЗИ ОБП: сонографические признаки хронического холецистита. При объективном осмотре: отмечалось увеличение печени на 1,0 см из-под края реберной дуги, край плотно-эластической консистенции, подвижный, безболезненный. Консультирован специалистами (терапевт, эндокринолог, окулист, психиатр) – противопоказаний к проведению ПВТ нет. Вирусологический ответ на фоне лечения: БВО – не получен; РВО, ВО на 24 неделях - получены. На 36 неделе терапии возник рецидив (РНК ВГС в ПЦР – 347 000 коп/мл), в связи с чем ПВТ была отменена. НЯ на фоне терапии: на 1-ую инъекцию ИФН- $\alpha 2b$ отмечался гриппоподобный синдром (повышение температуры тела до 38⁰С, артралгии, миалгии); на 2 и 3-ю инъекции – субфебрильная температура, далее пациент предъявлял жалобы на слабость, сухость кожных покровов. Гематологические НЯ: на 12 неделе развилась тромбоцитопения ($165,0 \cdot 10^9/\text{л}$), которая купировалась к 24 неделе ПВТ ($191,0 \cdot 10^9/\text{л}$). На 24 неделе отмечалась анемия легкой степени тяжести (Er- $3,48 \cdot 10^{12}/\text{л}$, Hb - 111 г/л). Коррекции выявленных гематологических изменений не потребовалась. В 2011 г. больной взят на повторную терапию (стандартный ИФН- $\alpha 2b$ - «Интераль-П®» по 3 млн. МЕ/сут. через день; рибавирин по 1000 мг/сут в течение 48 недель) с препаратом

сопровождения - ИЛ-1 β («Беталейкин®») - 10 подкожных инъекций по 0,005 мкг/кг через день, всего 5 курсов по 3 недели (50 инъекций). Исходные данные до начала терапии: высокая вирусная нагрузка – РНК ВГС 2 600 000 коп/мл; ИМТ-20,6 кг/м²; F-0 (4,4 кПа) по METAVIR; уровень АлАТ – 41,1 ед/л; протеинограмма, ОАК, ОАМ в пределах значений здоровых лиц. Генотипирование по ИЛ-28В – СТ (rs12979860)/TG(rs8099917); УЗИ ОБП: сонографические признаки хронического холецистита. При объективном осмотре: отмечалось увеличение печени на 1,0 см из-под края реберной дуги, край плотно-эластической консистенции, подвижный, безболезненный. Консультирован смежными специалистами (терапевт, эндокринолог, окулист, психиатр) – противопоказаний к проведению ПВТ нет. Вирусологический ответ на фоне лечения: получены БВО, РВО, ВО на 24 и 48 неделях. На 24 неделе диспансерного наблюдения РНК ВГС не определялась СВО сохраняется на протяжении 1 года (последний отрицательный результат ПЦР на РНК ВГС от 19.12.12 г.). НЯ на фоне терапии: на первые 2 инъекции ИФН- α 2b отмечался гриппоподобный синдром (повышение температуры тела до 37,2^оС, слабость, головная боль); далее больной предъявлял жалобы на слабость, снижение аппетита, выпадение волос, сухость кожных покровов и слизистых. На инъекции ИЛ-1 β отмечал субфебрильную температуру в течение нескольких часов после введения препарата, местно: болезненность и гиперемию. Гематологические НЯ: на 4-12-24 неделях лечения отмечалась анемия легкой степени тяжести (Er-3,71·10¹²/л - 3,79·10¹²/л - 3,78·10¹²/л; Hb -119 г/л - 114 г/л -120 г/л, соответственно), которая не требовала коррекции доз препаратов или отмены терапии.

Включение цитокинового препарата ИЛ-1 β («Беталейкин®») в комбинированную ПВТ ХГС в качестве препарата сопровождения у пациентов – «неответчиков» с преобладанием неблагоприятного генетического фона по ИЛ-28В типированию способствовало повышению СВО (36%), результат при исходно «нулевом» ответе составил 11%. Нежелательные явления препарата ИЛ-1 β определялись преимущественно умеренной лихорадочной реакцией и местным болевым синдромом, не требующих отмены ПВТ и назначения интенсивной патогенетической терапии. Наряду со стабильным уровнем нейтрофилов в

пределах уровня здоровых на фоне приёма ИЛ-1 β у пациентов с СВО восстанавливались ФАН и ФЧ до уровня здоровых лиц и нормализовалась функционально-метаболическая активность нейтрофилов в спонтанном варианте НСТ-теста ($p < 0,001$) на фоне сохранения их резервных возможностей (в индуцированном НСТ-тесте). Цитокиновый статус пациентов, неответивших на ПВТ, характеризовался исходными достоверно низкими показателями ИЛ-1 β и ФНО-альфа по сравнению с данными здоровых и достигшими СВО на фоне низких абсолютных чисел CD3+лимфоцитов, NK-клеток, уровня АЛАТ и сохранились низкими после ПВТ при сниженных данных клеточного иммунитета (CD3+, CD4+, CD8+ лимфоцитов).

4.2.2. Оценка различных схем лечения ХГС у пациентов - "неответчиков" с включением интерлейкина-1 β или интерферона- γ в комбинированную терапию (стандартный альфа-интерферон+рибавирин)

В исследование было включено 43 пациента с ХГС (58% мужчин) в возрасте $35,9 \pm 0,78$ лет, со сроком инфицирования $5,6 \pm 0,34$ лет (табл. 4.50). Исходные показатели активности ВГС-инфекции определялись высокой вирусной нагрузкой РНК ВГС - у 23 (53,5%) больных; генотипом 1 у 28 (65,1%) исследуемых; АЛАТ - $84,4 \pm 5,57$ ед/л. По результатам фиброэластометрии печени (по METAVIR) - степень фиброза не превышала F3 (12,5 кПа). Всем пациентам, как в ходе подготовки к терапии, так и на ее фоне (4, 12, 24, 48 недели ПВТ), а также через 24 недели после ее окончания проводились общепринятые методы исследования.

В зависимости от схемы ПВТ и генотипированию по ИЛ-28В пациенты были разделены на 4 группы: в первую ($n=10$) и вторую ($n=10$) группы вошли пациенты, неответившие на предыдущую комбинированную ПВТ (ИФН- α и рибавирин); третью ($n=10$) и четвертую ($n=13$) - группы сравнения - составили наивные пациенты. Первичная ПВТ в 1-ой и во 2-ой группах была проведена у 55% пациентов стандартными ИФН- α ; у 45% - Пег-ИФН- α в сочетании с рибавирином.

Исходные показатели пациентов ХГС в сравниваемых группах

Характеристика пациентов	1 группа (n=10)	2 группа (n=10)	3 группа (n=10)	4 группа (n=13)
Мужчины, n (%)	7 (70)	7 (70)	4 (40)	7 (54)
Возраст (годы, М±m)	35,0±2,56	32,9±1,2	37,5±1,5	38,5±5,2
Срок инфицирования ВГС:				
-до 10 лет	7 (70)	7 (70)	8 (80)	12 (92,3)
-10-15 лет	3 (30)	3 (30)	2 (20)	1 (7,7)
ИМТ (М±m), кг/м ²	24,2±1,25	24,0±1,02	26,5±2,1	24,1±1,5
Вирусная нагрузка РНК ВГС, n (%)				
-<400000 МЕ/мл	6 (60)	4 (40)	6 (60)	4 (30,8)
->400000 МЕ/мл	4 (40)	6 (60)	4 (40)	9 (69,2)
Генотип ВГС, n (%)				
-1a/1b	10 (100)	4 (40)	7 (70)	7 (54)
-3a	-	6 (60)	3 (30)	6 (46)
АЛТ (М±m), ед/л	77,8±5,3	98,8±4,8	49,0±5,7	89,1±6,5
Первичная ПВТ, n(%):				
-Пег-ИФН-α и РБВ	6 (60)	3 (30)	-	-
-Ст-ИФН-α и РБВ	4 (40)	7 (70)	-	-

Примечание: РБВ – рибавирин.

Пациенты 1-ой, 2-ой и 3-ей групп имели неблагоприятные генотипы СТ, ТТ (rs12979860) и ТG, GG (rs8099917) гена ИЛ-28, в 4-ой - сочетание благоприятных генотипов СС (rs12979860) и ТТ (rs8099917). Пациенты первой группы получали ПВТ по схеме: рекомбинантный ИФН-α2b (препарат «Интераль-П®») по 5 млн. МЕ ежедневно, подкожно (п/к) в течение 12 недель, затем через день по 5 млн. МЕ до окончания лечения в сочетании с рибавирином 10-15 мг/кг/сут. (800-1200 мг/сут), ИЛ-1β («Беталейкин®») п/к по 0,005 мкг/кг через день в течение первых 12 недель лечения (всего на курс - 45 инъекций). Пациенты второй группы лечились по схеме: рекомбинантный ИФН-α2b (препарат «Альфарон®») в дозе 5 млн. МЕ ежедневно п/к в течение 12 недель, затем по 3 млн. МЕ ежедневно до окончания ПВТ, рибавирин в зависимости от массы тела 10-15 мг/кг/сут. (800-1200 мг/сут) per os и препарат ИФНγ («Ингарон») внутримышечно по 500 000 МЕ через день в течение 24 недель (всего на курс – 90 инъекций). Пациенты третьей и четвертой групп получали стандартные ИФН-α2b («Альфарон®», «Интераль-П®») в дозе 5 млн. МЕ ежедневно п/к в течение 12 недель, затем по 3 млн. МЕ ежедневно до окончания

ПВТ и рибавирин 10-15 мг/кг/сут. (800-1200 мг/сут.). Длительность терапии в группах составляла 24-48 недель в зависимости от генотипов ВГС.

Частота распределения генотипов ПЕН по ИЛ-28В представлена у пациентов исследуемых групп (n=43) в табл. 4.51. При исследовании цитокинового профиля у пациентов первой и второй групп до лечения показатели ИЛ-1 β ($3,21 \pm 2,12$ и $11,51 \pm 2,4$ пкг/мл, $p < 0,01$) и ИФН γ ($0,510 \pm 0,004$ и $35,7 \pm 7,2$ пкг/мл, $p < 0,001$) были достоверно ниже по сравнению с показателями здоровых лиц без статистических различий между группами.

Таблица 4.51

Частота распределения генотипов ИЛ-28В у пациентов ХГС в исследуемых группах

	rs12979860			rs8099917		
	CC	CT	TT	TT	TG	GG
1 группа (n=10)	-	7 (70%)	3 (30%)	-	9 (90%)	1 (10%)
2 группа (n=10)	-	10 (100%)	-	-	10 (100%)	-
3 группа (n=10)	-	10 (100%)	-	-	5 (50%)	5 (50%)
4 группа (n=13)	13 (100%)	-	-	13 (100%)	-	-

Два пациента (по одному из 1 и 2 групп) выбыли в ходе ПВТ (на 2 и 3 неделях терапии) из-за низкой приверженности к лечению. Вирусологический ответ на ПВТ у пациентов представлен в табл. 4.52. БВО получен в 1-ой группе у 44,4% пациентов; во 2-ой - у 22,2%; в 3-ей - у 30% и в 4-ой – у 61,6% больных; РВО наблюдался у 100% пациентов 3-ей и 4-ой групп.

Таблица 4.52

Вирусологический ответ на ПВТ у пациентов ХГС при различных схемах лечения

Сроки наблюдения*	I группа (n=9)	II группа (n=9)	III группа (n=10)	IV группа (n=13)
БВО (на 4 нед. ПВТ)	4 (44,4%)	2 (22,2%)	3 (30%)	8 (61,5%)
РВО (на 12 нед. ПВТ)	4 (44,4%)	7 (77,8%)	10 (100%)	13 (100%)
ВО (на 24 нед. ПВТ)	6 (66,7%)	7 (77,8%)	6 (60%)	13 (100%)
ВО (на 48 нед. ПВТ)	5 (55,6%)	1 (33,3%), n=3	3 (43%), n=7	7 (100%), n=7
СВО (на 24 нед. после ПВТ)	4 (44,4%)	4 (44,4%)	3 (30%)	8 (61,5%)

*Примечание: БВО – быстрый вирусологический ответ, РВО – ранний вирусологический ответ, ВО – вирусологический ответ, СВО – стойкий вирусологический ответ.

Стойкий вирусологический ответ достигнут у 44,4% пациентов в 1-ой группе (все с 1 генотипом ВГС), у 44,4% пациентов, получавших цитокиновую терапию ИФН γ (с 1 генотипом ВГС - у 33%, с 3 генотипом ВГС- у 50% больных), у 30% третьей группы (с 1 генотипом ВГС – у 14,3%, с 3 генотипом ВГС – у 33,3%) и у 61,5% четвертой группы (с 1 генотипом ВГС – у 42,9%, с 3 генотипом ВГС – у 83,3%). Наилучший ответ на ПВТ был достигнут в группе наивных пациентов с благоприятными генотипами СС (rs12979860) и ТТ (rs8099917) по ИЛ-28В, при этом с максимальным результатом у исследованных с 3 генотипом ВГС. Литературных данных о предсказательной ценности различных генотипов в гене ИЛ-28В у больных с не 1 генотипом ВГС недостаточно, но ранее проведенные исследования показывают взаимосвязь вариаций ПЕН в локусах (rs12979860 и rs8099917) и ответа на комбинированную терапию пегилированным интерфероном и рибавирином у этой категории пациентов.

Динамика уровня АлАТ на фоне ПВТ: в 1 группе - к 4 неделе лечения уровень АлАТ нормализовался у 45% больных, у 45% отмечался повышенным до 3N, у 10% - от 3-5N; на 24 неделе ПВТ: показатели АлАТ у 55% пациентов зафиксированы на уровне значения здоровых, у 45% были повышены до 3N; на 48 неделе лечения у всех больных (n=5) показатель АлАТ достиг уровня здоровых. Во 2 группе: к 4 неделе ПВТ уровень АлАТ нормализовался у 33% больных, у 44% отмечался повышенным до 3N, у 22% - >5N; на 24 неделе лечения нормальные показатели АлАТ зафиксированы у 55,6% пациентов. В 3-ей группе – к 4 неделе терапии нормальный уровень АлАТ отмечался у 28% больных, у 72% - оставался повышенным до 3N; к 24 неделе лечения - нормальные показатели АлАТ зафиксированы у 72% пациентов, у 28% были повышены до 3N. В 4-ой группе: к 4 неделе лечения уровень АлАТ нормализовался у 53,8% больных, у 38,5% отмечался повышенным до 3N, у 7,7% - от 3-5N; на 24 неделе ПВТ: нормальные показатели АлАТ зафиксированы у 84,6% пациентов; у остальных были повышены до 3N. К 24 неделе диспансерного наблюдения пациенты, достигшие СВО, имели уровни АлАТ в пределах показателей здоровых лиц во всех 4 группах.

При анализе НЯ были учтены побочные эффекты всех препаратов, включенных в экспериментальные комплексные схемы ПВТ – рекомбинантные ИЛ-1 β и ИФН- α 2b, ИФН γ , рибавирин. Не выявлено ни одного случая серьезной нежелательной реакции или непредвиденной НР. Гриппоподобный синдром диагностировался в 100% случаев с разной степенью выраженности (гипертермия купировалась введением парацетамола или нестероидных противовоспалительных препаратов). В области подкожного введения ИЛ-1 β через 4-6 часов после введения у всех пациентов появлялись болезненность, гиперемия и слабо выраженный инфильтрат, которые не являлись проявлением инфицирования и не требовали врачебного вмешательства; на введение ИФН γ нежелательные явления у исследованных не отмечались.

Таким образом, включение цитокиновых препаратов при повторном лечении ХГС в комбинации с ИФН- α 2b и рибавирином позволило получить СВО у 44,4% пациентов с неблагоприятным генетическим фоном по ИЛ-28В, с достижением биохимического ответа при отсутствии серьезных нежелательных явлений, что определяет целесообразность применения препаратов ИЛ-1 β («Беталейкин®») и ИФН γ («Ингарон») у пациентов, неответивших на предыдущее лечение.