

На правах рукописи

РЮМИН Александр Михайлович

ОБОСНОВАНИЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО ПОДХОДА К ТЕРАПИИ  
ХРОНИЧЕСКИХ ГЕПАТИТОВ В И С С УЧЕТОМ ОСОБЕННОСТЕЙ БОЛЬНЫХ,  
ХАРАКТЕРИСТИКИ ВИРУСА И ИММУННОГО ОТВЕТА

14.01.09 - инфекционные болезни

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург, 2013

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Нижегородская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук профессор **Корочкина Ольга Владимировна**

**Официальные оппоненты:**

**Эсауленко Елена Владимировна** доктор медицинских наук профессор ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой инфекционных болезней взрослых

**Мукомолов Сергей Леонидович** доктор медицинских наук профессор ФГУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Роспотребнадзора Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, заместитель директора по научной работе, заведующий лабораторией вирусных гепатитов

**Ведущая организация:** Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2014 года в \_\_\_ часов на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 208.090.02 на базе ГОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» (197022, Санкт-Петербург, ул.Рентгена 12, корп.44, ауд.12, 6 этаж)

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова (197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6-8)

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 20\_\_ года

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук профессор

**Александров Альберт Леонидович**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Хронические гепатиты В и С остаются глобальной проблемой современного здравоохранения, что определяется их широким распространением и тяжелыми последствиями (цирроз печени и гепатоцеллюлярная карцинома). Однако задача прогнозирования естественного течения является до настоящего времени окончательно не решенной. Литературные данные по этому вопросу весьма противоречивы. Так, при гепатите В вероятность формирования цирроза печени в течение 5 лет оценивается в 2 – 20% (Ющук, 2010; Yuen, 2007). При гепатите С вероятность формирования цирроза печени по данным разных авторов также сильно варьирует: от 2 – 3,4% в течение 20 лет наблюдения (Климова, 2003, Kenny-Walsh, 1999; Wiese, 2000) до 24% в течение 8 – 14 лет (Seeff, 2001; Tremolada, 1992; Koretz, 1993; Hopf, 1990; Di Bisceglie, 1991) и даже 45% в течение 30 лет (Ющук, 2010). Это определяет необходимость выявления возможно большего и значимого числа факторов, определяющих течение ХГВ и ХГС. Их использование позволит с высокой точностью определять прогноз течения болезни у каждого конкретного больного, дифференцированно подходить к выбору тактики ведения пациента.

Несмотря на широко проводимые исследования, многие механизмы и факторы, определяющие тяжесть течения и характер естественного течения болезни остаются недостаточно изученными. Дискутируется значение демографических (пол, возраст, путь инфицирования, наличие привычных интоксикаций) и вирусологических факторов (при ХГВ – титр HBsAg, HBeAg-статус, вирусная нагрузка и др.; при ХГС – вирусная нагрузка и генотип вируса).

Недостаточно разработан и вопрос прогнозирования эффективности ПВТ: изучается роль демографических факторов, HBeAg-статуса, исходного титра HBsAg, исходной вирусной нагрузки при ПВТ ХГВ. При ПВТ ХГС, помимо демографических факторов, изучается влияние генотипа вируса, исходной вирусной нагрузки, а также вирусной кинетики. Предметом обсуждения остается и выбор конкретных противовирусных препаратов. В частности, при ПВТ ХГВ препараты имеют разный профиль резистентности, а при ПВТ ХГС существенно различается эффективность стандартных и пегилированных интерферонов. Это определяет необходимость поиска новых факторов, позволяющих прогнозировать эффективность ПВТ.

Одним из наименее изученных аспектов остаются особенности клеточного и гуморального звеньев иммунитета, лежащие в основе патогенеза хронических гепатитов В и С. В ряде работ показано, что изменение сывороточной концентрации растворимых форм дифференцировочных антигенов свидетельствует об активации или угнетении различных иммунокомпетентных клеток и отдельных иммунных процессов (Егорова, 2004, Новиков, 2009,

Собчак, 2005). В связи с этим можно предположить, что их определение в сопоставлении с оценкой клинико-демографических и вирусологических факторов будет дополнительным прогностическим фактором в отношении результатов ПВТ с использованием интерферонов.

#### **Цель исследования**

Анализ факторов, определяющих естественное течение ХГВ и ХГС, эффективность ПВТ, на этой основе прогнозирование ее результатов и разработка дифференцированного подхода к ведению разных форм хронических гепатитов В и С.

#### **Задачи исследования**

1. Оценить влияние пола, возраста в момент инфицирования, длительности болезни, пути инфицирования, наличия СЗЖВП и привычных интоксикаций на характер естественного течения хронических гепатитов В и С.
2. Оценить значение маркеров HbV и HcV в прогнозировании темпов прогрессирования при естественном течении ХГВ и ХГС
3. Определить факторы, влияющие на результаты ПВТ и оценить их прогностическое значение.
4. Обосновать дифференцированный подход к назначению ПВТ в разных группах больных ХГВ и ХГС.

#### **Научная новизна исследования.**

1. Впервые установлено влияние особенностей больных, маркеров HbV и HcV на естественное течение болезни.
2. Впервые установлена взаимосвязь вирусной кинетики и показателей растворимых форм дифференцировочных антигенов, отражающих основные стадии иммунного ответа, с прогнозированием эффективности ПВТ.
3. Впервые определено прогностическое значение содержания растворимых форм дифференцировочных антигенов CD8, CD16, CD25, CD38, CD11b-50, CD11b-54, CD95 у больных хроническими гепатитами В и С в процессе ПВТ.
4. Впервые обоснована необходимость дифференцированного подхода к ведению больных ХГВ и ХГС с учетом комплекса клинико-демографических, вирусологических и иммунологических факторов.

#### **Практическая значимость.**

1. Комплексная оценка характеристики больного, вируса и иммунного ответа позволяет индивидуально оценить прогноз естественного течения ХГВ и ХГС. Такой подход позволяет выделить больных, нуждающихся в немедленном проведении ПВТ, а также прогнозировать ее эффективность. Факторами, определяющими активность естественного течения ХГВ и ХГС, являются: мужской пол, возраст в момент инфицирования старше 40 лет, заражение при гемотрансфузиях или употреблении наркотиков, употребление алкоголя. При ХГВ – дополнительно наличие СЗЖВП, высокие титры HbSAg, наличие HBeAg и высокая вирусная нагрузка (концентрация HbV ДНК более 4000 коп/мл), а при ХГС – наличие a/HcVns3 и a/HcVns5.
2. Факторы, определяющие эффективность ПВТ при ХГВ: возраст больных старше 40 лет, продолжительность болезни свыше 5 лет, отсутствие приема

алкоголя, отсутствие HBeAg, снижение титра HBsAg в ходе ПВТ, прием препарата с хорошим профилем резистентности (энтекавир, телбивудин), низкий уровень sCD8, sCD16, sCD38, sCD11b-50, sCD11b-54, sCD25 и sCD95. При терапии ХГС благоприятными прогностическими факторами являются: возраст до 30 лет, нормализация АлАт на 4 неделе лечения, 3а генотип HCV, наличие БВО, РВО и МВО (при курсе ПВТ 48 недель), высокий уровень sCD16, sCD11b-50 и динамическое снижение уровня sCD11b-54.

**Личное участие автора в получении результатов.** Основной вклад соискателя в работу заключается в планировании, организации и проведении исследований по всем разделам диссертации, в оформлении цели и задач, определении объема и методов исследования, сборе первичных данных, накоплении клинического материала, статистической обработке полученных данных, анализе обобщенных результатов, подготовке публикаций по теме диссертации

#### **Основные положения, выносимые на защиту.**

1. У мужчин с ХГВ старше 40 лет в момент инфицирования, с предположительно высокой исходной дозой инфекта (гемотрансфузии, употребление наркотиков), употребляющих алкоголь, при наличии СЗЖВП, высоких титров HBsAg, HBeAg-позитивных с концентрацией HBV ДНК более 4000 коп/мл регистрируется высокая активность течения болезни. В связи с этим они нуждаются в проведении ПВТ в возможно ранние сроки.

2. У мужчин с ХГС старше 30 лет в момент инфицирования, с заражением при гемотрансфузиях или употреблении наркотиков, употребляющих алкоголь, при наличии а/HCVns3 и а/HCVns5 регистрируется высокая активность болезни. Они нуждаются в неотложном проведении комбинированной ПВТ ( $\alpha$ -интерферон и рибавирин).

3. ПВТ ХГВ аномальными нуклеоз(т)идами (предпочтителен энтекавир) наиболее эффективна у больных с HBeAg-негативным вариантом ХГВ, старше 40 лет, с продолжительностью болезни более 5 лет, при полном отказе от алкоголя. В процессе лечения необходимо мониторировать уровень HBV ДНК и титр HBsAg.

4. ПВТ ХГС максимально эффективна у больных до 30 лет, при генотипе HCV 3а и низкой исходной вирусной нагрузке. Основными предикторами в данном случае являются показатели вирусной кинетики (БВО, РВО и МВО)

5. Контроль содержания растворимых форм дифференцировочных антигенов (sCD38, sCD11b-50, sCD11b-54, sCD25 и sCD95 при ХГВ и sCD16, sCD11b-50, sCD11b-54 при ХГС) является важным дополнительным критерием прогнозирования эффективности ПВТ при ХГВ и ХГС.

**Реализация и внедрение результатов исследования.** Результаты исследования внедрены в практику работы нижегородского гепатологического центра на базе инфекционной клинической больницы №2, учебный процесс на кафедре инфекционных болезней ГОУ ВПО НижГМА Росздрава, применяются на амбулаторном приеме в КИЗ поликлиники №11.

**Апробация и публикация материалов исследования.** Материалы диссертации доложены автором и обсуждены на заседании проблемной

комиссии по научным проблемам инфекционных болезней Нижегородской государственной медицинской академии, юбилейной научно-практической конференции, посвященной 85-летию кафедры инфекционных болезней Казанского государственного медицинского университета, Всероссийской научной конференции молодых ученых, Санкт-Петербург, 2011 г., X ежегодной научной сессии молодых ученых и студентов НижГМА, 2011 г.

По теме диссертации издано 10 публикаций, из них 6 статей в журналах, рекомендованных ВАК.

#### **Объем и структура диссертации.**

Работа изложена на 163 страницах компьютерного набора, состоит из 6 глав (обзора литературы, описания материалов и методов исследования, четырех глав по результатам собственных исследований), общего заключения с основными выводами и практическими рекомендациями, указателя литературы, содержащего 252 источника, в том числе 63 отечественных и 189 зарубежных авторов. Диссертация документирована 23 выписками из историй болезни, иллюстрирована 9 таблицами и 28 рисунками.

### **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

#### **Характеристика материалов и методов исследований.**

Исследование проводилось в Нижегородском гепатологическом центре на кафедре инфекционных болезней ГОУ ВПО НижГМА, на базе клинической инфекционной больницы №2 (гл. врач О.А. Мажара) и Нижегородского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени И.Н. Блохиной (зав. лабораторией д.б.н. профессор В.В. Новиков) в течение 2007-2013 гг.

В соответствии с поставленными в работе задачами, обследованы 59 больных ХГВ в возрасте от 19 до 70 лет (37 мужчин и 22 женщины), 68 больных ХГС в возрасте от 18 до 64 лет (43 мужчины и 25 женщин), проходивших противовирусную терапию, а также 82 больных ХГВ в возрасте от 16 до 77 лет (52 мужчины и 30 женщин), 100 больных ХГС в возрасте от 15 до 68 лет (57 мужчин и 43 женщины), не получавших противовирусной терапии (группа сравнения).

Диагноз «хронический гепатит» устанавливался на основании анамнеза (в том числе, тщательно выяснялась давность заболевания и наиболее вероятный путь инфицирования), клинических данных и сохранения специфических маркеров по данным ИФА (HBeAg, HBsAg, a/HBeAg, a/HBcor сумм; a/HCV сумм, a/HCVcor IgM, a/HCVcor сумм, a/HCVns3, a/HCVns4, a/HCVns5) и ПЦР (HBV ДНК качественно и количественно; HCV РНК качественно, количественно и генотип) не менее 6 месяцев. Больные ХГВ дополнительно были обследованы на маркеры HDV для исключения микст-инфекции. При ХГВ учитывалась репликативная активность вируса (высокая – HBeAg-позитивный гепатит; низкая – HBeAg-негативный гепатит) и фаза заболевания (обострением считалось повышение уровня АлАт выше верхней границы нормы). При ХГС репликативная активность вируса определялась по наличию HCV РНК в сочетании с a/HCVcor IgM и a/HCVns5, поскольку ранее в нашей клинике была установлена связь этих антител с высокой активностью

репликации (Бузина, 2004). Обострение заболевания фиксировалось при повышении уровня АлАт выше верхней границы нормы.

Активность течения ХГВ и ХГС оценивалась по наличию симптомов МПН, частоте повышения АлАт, частоте высокого цитолиза (повышение АлАт более чем в 5 раз выше нормы), частоте выраженного фиброза и величине ИГА.

Сывороточное содержание суммарных и олигомерных фракций растворимых молекул и комплексов определяли с помощью моноклональных антител (МКА) серии ИКО и козьих поликлональных антител, направленных против антигенов мононуклеарных клеток периферической крови человека с использованием ИФА.

В группе больных ХГВ, получавших ПВТ, перед началом лечения и не реже 1 раза в 6 месяцев в ходе ПВТ исследовалась НВV ДНК методом ПЦР в реальном времени, динамика титров НВsAg. ПВТ больных ХГВ проводилась с использованием энтекавира, телбивудина или ламивудина в рекомендованных дозах и режимах. Основным критерием успешной ПВТ являлось отсутствие определяемого уровня НВV ДНК в течение 3 лет приема препарата.

Больные ХГС получали комбинированную ПВТ с использованием стандартных или пегилированных интерферонов в комбинации с рибавирином. Критерием эффективности ПВТ было отсутствие определяемого уровня HCV РНК в крови через 24 недели после окончания лечения.

Для статистической обработки полученных результатов были использованы пакеты «Excel» и «БИОСТАТ». Часть изучаемых показателей показали распределение, отличное от нормального, и для оценки достоверности межгрупповых различий использовался критерий Манна-Уитни. Достоверность различий нечисловых параметров подтверждалась с использованием критерия  $\chi^2$ -Пирсона или точного критерия Фишера. В качестве вероятности ошибки применялась величина  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### ХГВ

При анализе естественного течения ХГВ было установлено, что мужской пол больных ассоциирован с большей частотой симптомов МПН (81% по сравнению с 60% у женщин,  $p=0,074$ ), повышения АлАт (59% по сравнению с 41% у женщин,  $p=0,040$ ) и выявления выраженного фиброза (6 из 8 мужчин и 3 из 7 женщин,  $p=0,315$ ). ИГА у мужчин также был несколько выше, чем у женщин:  $12,3 \pm 1,4$  и  $11,0 \pm 1,3$  ( $p=0,797$ ). Т.о., у женщин болезнь протекала более доброкачественно, что определяется, по-видимому, цитопротективным действием эстрогенов с одной стороны и меньшей частотой привычных интоксикаций с другой.

При увеличении возраста в момент инфицирования частота симптомов МПН возрастала с 56,7% до 90,5% ( $p=0,012$ ), ферментных обострений – с 42% до 63% ( $p=0,061$ ). С другой стороны, высокий цитолиз преимущественно регистрировался в группе больных, инфицированных в более молодом возрасте – 21-30 лет (23,1%). По-видимому, это связано с более напряженной иммунной реакцией, ведущей к гибели инфицированных гепатоцитов.

Обращала внимание высокая активность течения ХГВ у больных с предполагаемой высокой исходной дозой инфекта. В этой группе чаще регистрировались биохимические обострения (83% по сравнению с 47% у больных с низкой дозой,  $p=0,045$ ) и выраженный фиброз (все 6 больных по сравнению с 3 из 9 больных с низкой дозой,  $p=0,028$ ), выше были значения ИГА ( $9,3\pm 1,2$  по сравнению с  $11,6\pm 0,9$ ,  $p=0,042$ ).

По мере увеличения длительности ХГВ репликативная активность вируса снижалась в соответствии с изменением характера иммунного ответа. Поэтому закономерным явилось снижение частоты ферментных обострений с 61% у больных с длительностью ХГВ менее 5 лет до 37% у больных с длительным (более 5 лет) течением ХГВ ( $p=0,005$ ) и величины ИГА с  $10,4\pm 1,3$  до  $9,4\pm 1,4$  ( $p=0,347$ ). С другой стороны, в этих группах не было выявлено существенных различий в характеристике клинических признаков болезни (симптомы МПН).

Было установлено, что наличие СЗЖВП коррелировало с высокой частотой симптомов МПН: 86% по сравнению с 6 из 17 при отсутствии СЗЖВП,  $p<0,001$ . В то же время наличие или отсутствие СЗЖВП не отражалось на частоте ферментных обострений, что, по-видимому, связано с приемом желчегонных препаратов с гепатопротективным эффектом.

В группе больных, злоупотребляющих алкоголем и/или употребляющих наркотики достоверно чаще, чем при отсутствии привычных интоксикаций регистрировались симптомы МПН (90% и 61% соответственно,  $p=0,008$ ), повышение уровня АлАт (63,3% и 39,6% соответственно,  $p=0,007$ ) выраженный фиброз (7 из 8 и 2 из 7 больных соответственно  $p=0,042$ ). Т.о., экзогенные токсины являются важным дополнительным корригируемым фактором, обуславливающим высокую активность течения ХГВ.

При оценке значения вирусной нагрузки было подтверждено, что низкая вирусная нагрузка (менее 4000 коп/мл) соответствует медленному прогрессированию болезни: ферментные обострения и выраженный фиброз регистрировались в 2 раза реже. С другой стороны, высокий цитолиз (повышение АлАт более чем в 5 раз) чаще регистрировался при низкой вирусной нагрузке, что отражает интенсивный иммунный ответ, подавляющий репликацию HBV (M.F. Yuen, 2007).

Было отмечено достоверное снижение частоты МПН после HBeAg-сероконверсии: с 88,9% до 51,4% ( $p=0,039$ ). У HBeAg-позитивных больных достоверно чаще, чем у HBeAg-негативных отмечалось повышение уровня АлАт (15 из 18 и 59 из 132 исследованных образцов соответственно,  $p=0,005$ ). Та же закономерность прослеживалась при исследовании частоты высокого цитолиза: у HBeAg-позитивных больных она была выше, чем у HBeAg-негативных: 3 из 9 и 5 из 72 больных соответственно ( $p=0,041$ ). Поскольку при гепатите В цитолиз гепатоцитов иммуноопосредован, то HBeAg-сероконверсия закономерно приводит к снижению цитолиза, что является одним из механизмов ускользания HBV от иммунного ответа.

Поскольку титры HBsAg отражают не только уровень виремии, но и внутрипеченочную вирусную нагрузку, можно предположить, что высоким титрам HBsAg соответствует более глубокое поражение гепатоцитов. В нашем



исследовании симптомы МПН регистрировались значительно чаще при высоких титрах HBsAg (1/2048 и выше), чем при средних (1/512 – 1/1024) и низких (1/256 и ниже): 29 из 33, 17 из 36 и 11 из 19 больных соответственно,  $p=0,019$ . С нарастанием титров HBsAg было отмечено увеличение частоты ферментных обострений (с 36,4% до 61,1%,  $p=0,032$ ).

При оценке эффективности ПВТ ХГВ были отмечены на первый взгляд неожиданные результаты. Так, она оказалась более эффективной у больных старше 40 лет и при более длительном (свыше 5 лет) течении болезни. Однако при детальном анализе было установлено, что меньшая эффективность ПВТ у больных до 30 лет (54,2%) сравнительно с больными старше 40 лет (85,7%,  $p=0,028$ ) связана с пропусками в приеме препарата. Второе «несоответствие», по-видимому, связано с уменьшением репликативной активности в ходе естественного течения ХГВ. Это и обусловило преимущественную эффективность ПВТ (14 из 15 больных с продолжительностью болезни свыше 5 лет и 19 из 30 больных с меньшей продолжительностью болезни ( $p=0,038$ )).

Как и следовало ожидать, ПВТ оказалась более эффективной у лиц, не принимавших алкоголь (87,2%), по сравнению с принимавшими алкоголь на фоне ПВТ (55%,  $p=0,015$ ). С другой стороны, наличие избыточной массы тела не снижало частоты достижения неопределяемого уровня HBV ДНК (83,3% и 69% при нормальной массе тела,  $p=0,322$ ). Это является дополнительным обоснованием преимущества лечения этой группы больных аномальными нуклеоз(т)идами.

В группе HBeAg-негативных больных эффективность ПВТ оказалась значительно выше, чем у HBeAg-позитивных: 44 из 54. В HBeAg-позитивной группе на лечение ответил лишь 1 из 5 больных ( $p=0,009$ ). Т.о. аномальные нуклеоз(т)иды являются препаратом выбора для лечения HBeAg-негативных больных.

При оценке влияния титров HBsAg была установлена преимущественная эффективность лечения больных с низкими титрами HBsAg (88,9% по сравнению с 68,4% и 72,7% в группах со средними и высокими титрами), но различия по данному параметру оказались статистически не достоверными. Более информативной в данном случае оказалась динамика титров HBsAg. Так, неопределяемый уровень HBV ДНК был достигнут у 16 из 17 больных при снижении титра в ходе ПВТ (вне зависимости от сроков) и у 15 из 24 больных при нарастании титра ( $p=0,028$ ). Больные со стабильными титрами HBsAg заняли промежуточное положение: отсутствие определяемого уровня HBV ДНК зарегистрировано у 14 из 18 больных.

У больных, не достигших эффекта, были существенно выше уровни sCD8, отражающего активацию цитотоксических клеток, и sCD16, участвующего в опсонизации антигенов, обеспечивая антителозависимую цитотоксичность. Таким образом, активность цитотоксических клеток, очевидно, не влияет на эффективность ПВТ аномальными нуклеоз(т)идами (в отличие от интерферонотерапии) и не имеет существенного прогностического значения. Концентрация sCD38 у больных, не ответивших на ПВТ, была значительно выше по сравнению с пациентами, ответившими на лечение ( $392\pm 26,4$  и

160±41,9, p=0,034). Его продукция повышается при презентации антигенов, т.е. уровень sCD38 выше при высокой репликативной активности HBV. Т.о., при недостаточно эффективной терапии аномальными нуклеоз(т)идами уровень антигенпрезентации выше.

Концентрация sCD50, характеризующая активность воспалительного процесса, у больных с эффективным лечением была достоверно ниже, чем при отсутствии ответа на ПВТ: 51±6,4 и 128±41,5 соответственно (p=0,042). Как и sCD50, уровень sCD54 соответствует активности репликации HBV и может быть использован для прогнозирования устойчивого ответа на ПВТ. Так, на фоне эффективной ПВТ концентрация sCD54 была значительно ниже, чем у больных с сохранившейся HBV ДНК: 101±8,6 и 229±10,9 соответственно, p=0,036. sCD25 и его олигомерная форма угнетают выработку  $\gamma$ -интерферона и интерлейкина-2, что приводит к уменьшению активности иммунного ответа. Соответственно, при высоком уровне sCD25 (280±20,4) отмечена неэффективность ПВТ. С другой стороны, у больных с низким уровнем sCD25 – 132±12,7 (адекватный иммунный ответ) – ПВТ оказалась эффективной (p=0,047).

Далее, концентрация sCD95, отражающего интенсивность апоптоза, была значительно ниже при эффективной терапии (240±134,3 и 657±27,6 соответственно, p=0,012). Это, по-видимому, связано со значительным снижением числа инфицированных гепатоцитов, а следовательно, и интенсивности апоптоза.

При сравнении эффективности разных аномальных нуклеоз(т)идов было установлено, что неопределяемый уровень HBV ДНК при лечении ламивудином был достигнут лишь у 3 из 12 больных. Причем резистентность к препарату у большинства больных развилась уже в течение первых 18 месяцев ПВТ. Т.о., данный препарат может быть использован при необходимости кратковременного курса лечения. Дополнительный анализ показал, что ламивудин может быть использован у мужчин, в возрастной группе 31-40 лет, при длительности болезни менее 5 лет, при отсутствии привычных интоксикаций, при исходной вирусной нагрузке менее 1000 коп/мл. Более эффективным оказались телбивудин (отсутствие определяемого уровня HBV ДНК у 14 из 18 больных, p=0,008) и энтекавир (отсутствие определяемого уровня HBV ДНК у 27 из 30 больных, p<0,001) вне зависимости от исходной вирусной нагрузки. При лечении телбивудином благоприятное прогностическое значение сохраняли мужской пол, возраст старше 40 лет, длительность болезни свыше 5 лет, отсутствие привычных интоксикаций, низкие титры HBsAg.

### ХГС

При анализе естественного течения ХГС было показано, что у мужчин достоверно чаще выявлялись симптомы МПН (91%, у женщин – 60%, p < 0,001), ферментные обострения (91,3% и 62,1%, p<0,001), а по данным исследования биоптатов – более высокий ИГА (12,5±0,8, у женщин – 11,5±0,9, p=0,653), связанный с более высокой некрвоспалительной активностью (достоверных различий в частоте выраженного фиброза не обнаружено).

В отличие от ХГВ, не было обнаружено достоверной связи возраста в момент инфицирования с частотой выявления симптомов МПН и ферментных обострений. Однако при анализе биоптатов печени доля больных с выраженным фиброзом возрастала при увеличении возраста в момент инфицирования с 6 из 9 до 5 из 5 больных ( $p_{1,4}=0,258$ ). ИГА с увеличением возраста в момент инфицирования нарастал с  $12,1\pm 0,9$  до  $13,2\pm 1,2$ , как за счет фиброза, так и некро-воспалительных изменений. В группе больных, инфицированных после 40 лет, ИГА составил  $10\pm 0$ , отмечено уменьшение некро-воспалительного компонента с сохранением ведущей роли фиброзирования.

У больных, инфицированных при употреблении наркотиков или гемотрансфузиях, достоверно чаще, чем при низкой предполагаемой инфицирующей дозе, выявлялись симптомы МПН (91% и 70% соответственно,  $p=0,031$ ), повышение уровня АлАт (91,6% и 66,1% соответственно,  $p<0,001$ ). Значения ИГА также были выше при высокой предполагаемой инфицирующей дозе, чем при низкой:  $13,3\pm 1$  и  $11,1\pm 0,7$  соответственно ( $p=0,038$ ).

Как и при ХГВ, при ХГС не было выявлено существенных различий в характеристике течения болезни у больных с ее длительностью до 5 лет и более 5 лет по большинству исследуемых параметров. Исключение составила частота повышения АлАт: гиперферментемия была зарегистрирована у больных с длительностью болезни до 5 лет в 202 из 247 исследованных образцов (82%), а при большей продолжительности болезни – в 91 из 128 (71%,  $p=0,025$ ). Отсутствие существенных различий по другим параметрам, по-видимому, связано с недостаточной длительностью наблюдения.

Как и при ХГВ, при ХГС наличие СЗЖВП не влияло на частоту повышения АлАт, однако, в отличие от ХГВ, оно не влияло и на частоту симптомов МПН. В то же время при наличии СЗЖВП значительно реже отмечался выраженный фиброз (7 из 13 больных с СЗЖВП и все 13 больных без СЗЖВП,  $p=0,015$ ). Это подтверждает благоприятный эффект от приема желчегонных препаратов с гепатопротективным эффектом.

При сопутствующей алкоголизации и/или наркотизации достоверно чаще выявлялись симптомы МПН (93% и 43% соответственно,  $p<0,001$ ) и повышение уровня АлАт (87,5% и 58% соответственно,  $p<0,001$ ). Значительно выше оказались и значения ИГА:  $12,5\pm 0,7$  и  $10,8\pm 0,8$  соответственно ( $p=0,032$ ). Все это подчеркивает важное прогностическое значение привычных интоксикаций и необходимость их исключения для улучшения прогноза естественного течения ХГС.

В отличие от ХГВ, не выявлено связи репликативной активности HCV с частотой МПН, повышения АлАт, частотой выраженного фиброза. Выявлена корреляция репликативной активности вируса с ИГА: при низкой репликации вируса средний ИГА составил  $11,8\pm 0,4$ , а при высокой –  $12,9\pm 0,5$  ( $p=0,034$ ). Это свидетельствует о различиях в цитопатогенности HBV и HCV и их взаимодействии с иммунной системой человека.

Была установлена связь частоты ферментных обострений ХГС и наличия антител к неструктурным белкам HCV. Так, у а/HCVns3-позитивных больных

повышение АлАт регистрировалось значительно чаще, чем при их отсутствии (81% и 69% соответственно,  $p=0,026$ ). В то же время существенного влияния на частоту симптомов МПН и морфологические изменения печени отсутствие этих антител не оказывало. При наличии а/НСVns5 также отмечались частые повышения АлАт (90% по сравнению с 56% при отсутствии а/НСVns5,  $p<0,001$ ). В то же время средний ИГА при наличии а/НСVns5 был существенно ниже, чем при их отсутствии:  $11,7\pm 0,7$  и  $13,3\pm 0,7$  соответственно ( $p=0,034$ ). Это явилось подтверждением результатов, ранее полученных в нашей клинике о том, что а/НСVns5 отражают репликативную, биохимическую и гистологическую активность НCV (Бузина, 2004).

При исследовании факторов, определяющих эффективность ПВТ ХГС наиболее значительным было влияние возраста. Так, УВО был достигнут у 92,3% больных в возрасте до 30 лет со снижением его частоты до 52,9% у больных старше 40 лет,  $p=0,047$ ). Это, с одной стороны, может быть связано с возрастным снижением активности иммунного ответа, а с другой – с нарастанием фиброза.

Важным прогностическим фактором оказалась динамика АлАт. Так, при нормализации уровня АлАт на 4 неделе ПВТ УВО регистрировался чаще, чем при сохранении гиперферментемии: 16 из 18 больных и 3 из 8 больных соответственно ( $p=0,014$ ).

Было подтверждено также прогностическое значение генотипа НCV. При 3 генотипе НCV УВО достигли 90% больных, при генотипе 1b, УВО достигли лишь 66% ( $p=0,039$ ). Исходная вирусная нагрузка сама по себе без учета генотипа НCV не определяла прогноз ПВТ. При дифференцированной оценке с учетом генотипа наибольшая частота УВО отмечалась у больных с 3 генотипом и низкой вирусной нагрузкой (все 9 больных). Больные с 3 генотипом и высокой вирусной нагрузкой по частоте достижения УВО близки к больным с 1b генотипом и низкой вирусной нагрузкой (9 из 11 и 24 из 33 больных соответственно,  $p=0,701$ ). У этих больных целесообразно увеличение длительности ПВТ с 24 до 48 недель. В группе больных с 1b генотипом и высокой вирусной нагрузкой частота УВО была минимальной – 6 из 12 больных. Т.о. прогностическое значение генотипа НCV возрастало в сочетании с оценкой исходной вирусной нагрузки.

Принципиально важным было значение вирусной кинетики. Так частота УВО у больных с БВО составила 91,7%, а при отсутствии БВО – лишь у 54,3% ( $p=0,003$ ). Причем прогностическое значение БВО одинаково велико у больных с 1 и 3 генотипами НCV. Частота УВО у больных, достигших РВО, была существенно выше, чем при отсутствии РВО: 41 из 48 и 2 из 10 больных соответственно ( $p<0,001$ ). Вместе с тем приходится учитывать более поздние сроки его оценки, что весьма важно при необходимости коррекции ПВТ.

У больных с 1 генотипом НCV дополнительно оценивался МВО. При его отсутствии ни один больной не ответил на ПВТ. В то же время при наличии МВО у 2 из 3 больных наблюдался УВО. Т.о., больные с МВО нуждаются в продолжении ПВТ (своеобразная «консолидирующая» терапия).

При оценке значения применяемого препарата была установлена преимущественная эффективность пегилированных форм: при 3 генотипе HCV на ПВТ ответили все больные, при 1b – 31 из 40 больных. ПВТ стандартными интерферонами оказалась менее эффективной, однако 4 из 7 больных, инфицированных HCV генотипа 3, и 2 из 6 больных, инфицированных HCV генотипа 1b, все же достигли УВО. Т.е., разработка новых схем лечения стандартными интерферонами больных с 2 и 3 генотипом HCV может оказаться весьма перспективной. С другой стороны, замена стандартных интерферонов на пегилированные у больных с генотипом 1b оказалась неэффективной: ни один больной не ответил на ПВТ. С учетом двухфазного ответа на интерферонотерапию (первая – в течение первого месяца – прямое противовирусное действие (P. Ferenci, 1999), целесообразным может быть начало ПВТ с пегилированных интерферонов с последующим переходом на стандартные в зависимости от БВО и РВО. С другой стороны, у всех больных с генотипом 3 HCV, переведенных со стандартных на пегилированные интерфероны при отсутствии БВО, удалось добиться УВО. Т.о. необходим дифференцированный подход к коррекции ПВТ при 1 и 3 генотипах HCV. Наши результаты, конечно, недостаточны для окончательного решения вопроса. Вместе с тем, полагаем, они могут быть основой для дальнейших исследований.

При анализе концентрации дифференцировочных антигенов было обнаружено существенное прогностическое значение изменений sCD16, sCD11b-50 и sCD11b-54 в отношении исходов ПВТ. Так, уровень sCD16 на 12 неделе ПВТ был выше у больных, достигших УВО:  $101 \pm 8,8$  и  $92 \pm 3,8$  соответственно ( $p=0,034$ ). При динамическом наблюдении отмечено снижение концентрации sCD16 у больных, достигших УВО, и нарастание его в группе больных, не ответивших на лечение. Т.о., антителозависимая цитотоксичность более значима на ранних этапах ПВТ. Концентрация sCD11b-50, участвующего в инициации иммунного ответа, была существенно выше у больных, достигших УВО:  $47 \pm 3,5$  и  $37 \pm 2,2$  соответственно ( $p=0,029$ ). С другой стороны, концентрация sCD11b-54 в ходе лечения у них снижалась с  $98 \pm 8,7$  до  $88 \pm 5,3$ . Т.о., интерферон-индуцированная активность иммунной системы в группе больных, достигших УВО, изначально была высокой. При неэффективной ПВТ наблюдалось значительное нарастание уровня sCD11b-54: с  $93 \pm 2,0$  до  $100 \pm 3,1$  ( $p=0,042$ ).

## **ВЫВОДЫ**

1. Мужской пол, инфицирование при гемотрансфузиях или употреблении наркотиков, употребление алкоголя, определяют активное естественное течение ХГВ и ХГС с высокой частотой симптомов МПН, ферментных обострений и структурных изменений печени. Имеется прямая зависимость возраста в момент инфицирования и прогрессирования ХГВ и ХГС. При этом «пограничным» при ХГС следует считать возраст инфицирования 30 лет, при ХГВ – 40 лет. При наличии неблагоприятных факторов естественного течения ХГВ и ХГС больным необходимо проведение ПВТ в возможно ранние сроки.

2. Выявление а/НСVns3 и а/НСVns5 при ХГС, высокие титры НВsAg, наличие НВеAg и концентрация НВV ДНК выше 4000 коп/мл при ХГВ являются неблагоприятными прогностическими факторами течения ХГВ и ХГС: с высокой частотой симптомов МПН, ферментных обострений и структурных изменений печени. Присутствие а/НСVns3 и а/НСVns5 существенно повышает частоту ферментных обострений, но при их отсутствии достоверно чаще определяется высокий показатель ИГА. При генотипе 1b НCV в структуре ИГА преобладает фиброз, при генотипе 3a – воспаление и жировая дистрофия. При выявлении неблагоприятных факторов естественного течения ХГВ и ХГС необходимо раннее начало ПВТ.

3. Высокую эффективность ПВТ ХГВ определяют: возраст больных старше 40 лет, продолжительность болезни свыше 5 лет, отсутствие приема алкоголя, отсутствие НВеAg, снижение титра НВsAg в ходе ПВТ, прием препарата с хорошим профилем резистентности (энтекавир), низкий уровень sCD38, sCD11b-50, sCD11b-54, sCD25 и sCD95. ПВТ ХГВ одинаково эффективна у мужчин и женщин, не зависит от ИМТ. Высокую эффективность ПВТ ХГС определяют: возраст до 30 лет, 3a генотип НCV или генотип 1b в сочетании с вирусной нагрузкой менее  $10^6$  коп/мл, нормализация уровня АлАт к 4 неделе ПВТ, наличие БВО, РВО и МВО (при курсе ПВТ 48 недель), а также высокий уровень sCD16, sCD11b-50 и динамическое снижение уровня sCD11b-54.

4. Подтверждена важность дифференцированного подхода к ведению больных хроническими вирусными гепатитами В и С. Необходимо учитывать факторы, определяющие неблагоприятное течение для определения сроков начала ПВТ, а также предикторы ее эффективности для выбора оптимальных препаратов и схем лечения.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. При прогнозировании активности естественного течения ХГВ и ХГС следует учитывать пол больного, возраст в момент инфицирования, путь инфицирования, наличие привычных интоксикаций, титры НВsAg, наличие НВеAg, сывороточную концентрацию НВV ДНК, генотип НCV, наличие а/НСVns3 и а/НСVns5. При сочетании неблагоприятных прогностических факторов следует рекомендовать проведение ПВТ в возможно ранние сроки. При сочетании благоприятных прогностических факторов естественного течения необходимо прогнозирование эффективности ПВТ для определения оптимальных сроков ее начала.

2. При сочетании возраста больных ХГВ старше 40 лет, продолжительности болезни свыше 5 лет, отсутствия приема алкоголя, отсутствия НВеAg показана ПВТ атипичными нуклеоз(т)идами с хорошим профилем резистентности.

3. Благоприятный прогноз достижения УВО у больных ХГС определяют возраст до 30 лет, 3a генотип НCV или генотип 1b в сочетании с вирусной нагрузкой менее  $10^6$  коп/мл.

4. В процессе ПВТ ХГВ на высокую вероятность достижения ответа указывают снижение титра HBsAg, низкий уровень sCD38, sCD11b-50, sCD11b-54, sCD25 и sCD95. Эти показатели следует учитывать в качестве предикторов эффективности у больных, получающих ПВТ.

5. При принятии решения о продолжении или завершении ПВТ ХГС (например, при наличии побочных эффектов ПВТ) следует учитывать наличие БВО, РВО и МВО (при курсе ПВТ 48 недель), нормализацию исходно повышенного уровня АлАт на 4 неделе лечения, а также высокий уровень sCD16, sCD11b-50 и динамическое снижение уровня sCD11b-54.

**Перечень научных работ, опубликованных по теме диссертации:**

1. Бондаренко И.М., Бабаев А.А., Кравченко Г.А., Рюмин А.М., Корочкина О.В. Суммарная и олигомерная фракции растворимого белка CD16 в сыворотке крови человека в норме и при вирусных гепатитах / Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2012. - №2(3). – С.246-250.

2. Корочкина О.В., Рюмин А.М. Оптимизация тактики ведения больных хроническим гепатитом С / Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2013. - №2. – С.24-27.

3. Рюмин А.М., Корочкина О.В. Гистологический ответ на противовирусную терапию хронического гепатита С у пациентов, не достигших устойчивого вирусологического ответа / Терапевтический архив. – 2012. - №11. – С.59-60.

4. Рюмин А.М., Корочкина О.В., Соболевская О.Л. Закономерности естественного течения хронического гепатита В / Врач-аспирант. – 2012. - №4.1(53). – С 214-223.

5. Рюмин, А.М. Закономерности естественного течения хронического гепатита С / Врач-аспирант. – 2012. - №1(50). – С.88-96.

6. Рюмин А.М., Корочкина О.В., Соболевская О.Л. Значение быстрого вирусологического ответа в прогнозировании эффективности противовирусной терапии хронического гепатита С / Актуальные вопросы инфектологии: материалы юбилейной научно-практической конференции, посвященной 85-летию кафедры инфекционных болезней Казанского государственного медицинского университета, Казань, 2010. – Казань, 2010. – С.23-24.

7. Рюмин А.М., Корочкина О.В. Значение быстрого вирусологического ответа в прогнозировании эффективности противовирусной терапии хронического гепатита С / Аспирантский вестник Поволжья. – 2011. - №5-6. – С.92-96.

8. Рюмин А.М. Критерии прогнозирования эффективности противовирусной терапии при хроническом гепатите В / Актуальные вопросы инфекционной патологии: Материалы научной конференции молодых ученых с международным участием, Санкт-Петербург, 3-4 февраля 2011 года. – Санкт-Петербург, 2011. – С.61.

9. Рюмин А.М. Прогноз естественного течения хронического гепатита В / Актуальные проблемы управления здоровьем населения: сборник научных трудов. – Нижний Новгород. – 2009. – С.315-318.

**10. Соболевская О.Л., Скрипачева М.В., Рюмин А.М. Противовирусная терапия хронического гепатита С у пациента с болезнью Вильсона-Коновалова / Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2012. – Т.22, №5(40). – С.99.**

### **Список сокращений**

АлАт – аланинаминотрансфераза  
АН – аномальные нуклеоз(т)иды  
БВО – быстрый вирусологический ответ  
γ-ГТП – гамма-глутаминтранспептидаза  
ГЦК – гепатоцеллюлярная карцинома  
ИГА – индекс гистологической активности  
ИМТ – индекс массы тела  
ИФА – иммуноферментный анализ  
МВО – медленный вирусологический ответ  
МПН – малая печеночная недостаточность  
ПВТ – противовирусная терапия  
ПЦР – полимеразная цепная реакция  
РВО – ранний вирусологический ответ  
ПВТ – противовирусная терапия  
СЗЖВП – сопутствующие заболевания желчевыводящих путей  
ХГВ – хронический гепатит В  
ХГС – хронический гепатит С  
чБВО – частичный быстрый вирусологический ответ  
чРВО – частичный ранний вирусологический ответ  
УВО – устойчивый вирусологический ответ  
HBV – вирус гепатита В  
HBV ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота HBV  
HCV – вирус гепатита С  
HCV РНК – рибонуклеиновая кислота HCV



Рюмин Александр Михайлович

Обоснование дифференцированного подхода к терапии хронических гепатитов В и С с учетом особенностей больных, характеристики вируса и иммунного ответа

14.01.09 - инфекционные болезни

Автореферат диссертации  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Подписано в печать \*\*\*. Формат 60x84 1/16.  
Печать цифровая. Бумага офсетная. Усл. печ. л. 1.  
Заказ №\*\*\*. Тираж 100 экз.

Отпечатано с готового оригинал-макета  
в типографии \*\*\*  
603000, г. Нижний Новгород, ул. Новая, 36