ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ПЕРМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ АКАДЕМИКА Е.А. ВАГНЕРА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИИСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

на правах рукописи

Булатова Ирина Анатольевна

ФИБРОЗ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ: МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ, КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ОЦЕНКА ПРОГРЕССИРОВАНИЯ И МОНИТОРИНГ ТЕРАПИИ

14.01.04 – внутренние болезни

Диссертация
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научные консультанты: доктор медицинских наук, профессор В.В. Щёкотов
доктор медицинских наук, доцент А.П. Щёкотова

Пермь
2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ……5
ВВЕДЕНИЕ……..7
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О МЕХАНИЗМАХ РАЗВИТИЯ И МЕТОДАХ ДИАГНОСТИКИ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ ……20
1.1. Фиброз как маркер тяжести и прогрессирования хронических заболеваний печени…….20
1.2. Характеристика методов диагностики фиброза печени……25
1.3. Современное представление о механизмах прогрессировании фиброза….40
1.4. Обзор значимых в прогрессировании фиброза полиморфизмов генов…..47
1.5. Современные принципы и антифибротический эффект терапии интерферонами……51
ГЛАВА 2. ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ, ОБЪЕМ НАБЛЮДЕНИЙ, МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И СХЕМЫ ЛЕЧЕНИЯ…….55
2.1. Клиническая характеристика больных……55
2.2. Методы исследования……60
2.2.1. Общеклиническое и лабораторное обследование……..60
2.2.2. Методы инструментального обследования……70
2.3. Схемы терапии……72
2.4. Статистическая обработка материалов исследования……73
ГЛАВА 3. ВЗАИМОСВЯЗЬ МАРКЕРОВ ФИБРОЗА С ЕГО ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИМИ ФАКТОРАМИ И МЕТАБОЛИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕЧЕНИ…….77
3.1. Характеристика стадий фиброза и диагностическая ценность его маркеров при хронических заболеваниях печени……..77
3.2. Взаимосвязь биохимических тестов с выраженностью фиброза……..84
3.3. Маркеры перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы в зависимости от тяжести поражения печени……...90
3.4. Взаимосвязь показателей метаболизма железа с фиброзом при

заболеваниях печени……93
3.5. Уровни сывороточных цитокинов в зависимости от тяжести фиброза печени……97
3.6. Взаимосвязь метаболических показателей со степенью поражения печени……102
ГЛАВА 4. ВЗАИМОСВЯЗЬ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ТЕСТОВ С ТЕМПОМ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ……..111
4.1. Оценка скорости развития фиброза при хроническом гепатите……111
4.2. Взаимосвязь патогенетически значимых тестов с динамикой развития фиброза……116
ГЛАВА 5. МОДЕЛИ НЕИНВАЗИВНОЙ ОЦЕНКИ СТАДИЙ, ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ФИБРОЗА И РИСКА РАЗВИТИЯ ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ……...121
5.1. Диагностическая значимость гиалуроновой кислоты для оценки стадии фиброза печени……...121
5.2. Диагностическое значение индекса фиброза на модели больных хроническим гепатитом……123
5.3. Прогнозирование темпа прогрессирования фиброза печени на модели больных хроническим гепатитом……129
5.4. Прогностическая ценность маркеров риска развития цирроза печени….131
ГЛАВА 6. ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ *HAS1* (G/A), *CAT* (G262A), *GPX4* (C718T), *ApoB* (R3500Q), *IL28B* (C/T), *IL17F* (C11139G) и *VEGFA* (G-634C) НА ТЯЖЕСТЬ ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ……..135
6.1. Исследование комбинаций аллельных вариантов исследуемых генов в когортах здоровых лиц и больных хроническим гепатитом в Пермском крае……..136
6.2. Особенности встречаемости полиморфизмов генов в зависимости от пола больных, генотипа вируса и уровня вирусемии……141
6.3. Влияние полиморфизмов изучаемых генов на скорость развития фиброза……148

6.4. Анализ ассоциации аллельных вариаций генов с выработкой патогенетически значимых факторов……...151
6.5. Исследование сочетанного влияния полиморфизмов исследуемых генов на темпы прогрессирования фиброза……152
ГЛАВА 7. ОЦЕНКА ОБРАТНОГО РАЗВИТИЯ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРЕПАРАТОВ ИНТЕРФЕРОНА……..155
7.1. Динамика параметров развития фиброза при терапии интерфероном пролонгированного действия……...156
7.2. Анализ результатов лечения интерфероном короткого действия…….163
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ……...171
ВЫВОДЫ…….205
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ…….207
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ……....209

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ - аланинаминотрансфераза

АОС – антиоксидантная система

АСТ - аспартатаминотрансфераза

АФП – альфа-фетопротеин

АЦП – алкогольный цирроз печени

ВН – вирусная нагрузка

ВЭФР – васкулоэндотелиальный фактор роста

ГГТП - гамма-глутамилтранспептидаза

ГК – гиалуроновая кислота

Г-КСФ – гранулоцитарный колониестимулирующий фактор

ГЛП – глутатион-пероксидаза

ИА – индекс атерогенности

ИЛ-6 – интерлейкин-6

ИЛ-17 – интерлейкин-17

ИЛ-28В – интерлейкин-28В

ИМТ – индекс массы тела

ИФ – индекс фиброза

ИФА – иммуноферментный анализ

ЛПВП – липопротеины высокой плотности

ЛПНП - липопротеины низкой плотности

ЛПОНП - липопротеины очень низкой плотности

МДА – малоновый диальдегид

НВО – непосредственный вирусологический ответ

ОЖСС – общая железосвязывающая способность сыворотки

ОНП – однонуклеотидный полиморфизм

Пег-ИФН-α – пегилированный интерферон-альфа

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ПЦР – полимеразная цепная реакция

СРФ – скорость развития фиброза

ТГ – триглицериды

УВО – устойчивый вирусологический ответ

УЗЭ – ультразвуковая эластография

ФНО-α – фактор некроза опухоли-альфа

ФП – фиброз печени

ХГ – хронический гепатит

ХГС – хронический гепатит С

ХЗП – хронические заболевания печени

ХС – холестерин

ЦП – цирроз печени

ЩФ – щелочная фосфатаза

HCV - hepatitis C virus

HOMA-IR – Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Во многих развивающихся странах заболевания печени входят в первую пятерку причин смертности. Диагностика и мониторинг динамики хронических заболеваний печени (ХЗП) – одна из самых актуальных задач современной гепатологии.

Основными этиологическими факторами в структуре патологии печени являются инфекции вирусами гепатита В и С, злоупотребление алкоголем и неалкогольная жировая болезнь печени. Инфекция, вызванная вирусом гепатита с (HCV) - одна из ведущих причин хронической патологии печени во всем мире. По мнению экспертов ВОЗ гепатит С – одно из трех наиболее социально значимых инфекционных заболеваний. По разным данным HCV в мире инфицировано 130-170 миллионов человек, что составляет приблизительно 3% населения Земли [134, 187, 193, 233, 263, 292, 325, 344, 358].

Не менее актуальной является проблема алкоголь-ассоциированных заболеваний печени. Наша страна входит в пятерку мировых лидеров по объему общего потребления алкоголя на душу населения [227], причем рост данного показателя сопровождается также увеличением частоты обусловленных алкоголем поражений печени и смертности от них [103, 104].

Основной путь прогрессирования ХЗП, приводящих к ее повреждению – это процесс активации фиброгенеза, а острые, хронические гепатиты (ХГ) и цирроз печени (ЦП) в их исходе – стадии одного процесса [23, 39, 57, 73, 340, 362].

В последнее время расширились представления о патогенетических основах воспаления и механизмах фиброгенеза [221, 222, 248, 327]. Достигнутый прогресс привел к пониманию возможности обратимости фиброза печени (ФП) [194, 199] и к достаточно реалистичным ожиданиям того, что эффективная терапия улучшит прогноз даже при циррозе [200].

В связи с чем, оценка прогрессирования ФП и наиболее значимых по влиянию на него факторов в динамике остается актуальной задачей современной медицины, обосновывая необходимость комплексного изучения механизмов его развития при заболеваниях печени различной этиологии и способов диагностики.

Гепатотропные вирусы, алкоголь оказывают прямое гепатотоксическое действие, вызывает иммуноопосредованное повреждение печени и провоцирует оксидативный стресс, усиливая тем самым процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ). По мнению некоторых авторов негативными последствиями ПОЛ может быть стимуляция фиброгенеза в печени [24, 176, 301]. В отношении активности ферментов антиоксидантной системы (АОС) в литературе встречаются достаточно противоречивые сведения. Очевидно, это объясняется многокомпонентностью её структуры и многообразием применяемых методических подходов к оценке активности этой системы. Таким образом, до настоящего времени нет единого мнения о роли окислительного стресса в развитии ХЗП. Следовательно, мониторинг активности ПОЛ, наряду с комплексным изучением системы антиоксидантной защиты у больных с заболеваниями печени, представляется актуальной задачей.

Определенный интерес с точки зрения комплекного подхода к изучению механизмов ФП представляет определение сывороточных маркеров обмена железа. Повышенное содержание ферритина, отражая перегрузку печени железом, может приводить к усилению липопероксидации и вероятно прогрессированию фиброзирования печеночной ткани. По мнению Ч.С. Павлова (2009) измененные сывороточные показатели обмена железа следует рассматривать, как дополнительные критерии ФП у больных хроническим гепатитом С (ХГС) [70, 71]. Однако, генез выраженных нарушений метаболизма железа и влияние на результаты этиотропной терапии при патологии печени все еще не до конца ясен, а данные различных исследований весьма противоречивы.

В различных исследованиях показана роль целого ряда цитокинов в патогенезе заболеваний печени [97, 174, 197, 269], а также в развитии осложнений [288, 330]. По мнению некоторых авторов определение цитокинового статуса играет важную роль для оценки динамики фиброза и прогноза заболевания, так как уровень цитокинов отражает интенсивность воспаления и регенераторных процессов в печени [97, 200, 221, 249, 269, 274]. В литературе встречаются данные о том, что продукция цитокинов нарушается на ранних стадиях развития

патологических процессов в печени, предшествуя функциональным нарушениям, а терапия хронических гепатитов сопровождается снижением увеличенных значений сывороточных цитокинов [79, 174]. Однако, нет однозначного представления о зависимости синтеза провоспалительных цитокинов от активности заболевания, а также их влияния на темпы прогрессии ФП.

Не менее актуальным аспектом в вопросе механизмов прогрессирования ФП является проблема сочетания вирусных, алкогольного и метаболических повреждений печени. Сопутствующие обменные нарушения рассматриваются в качестве основных причин «метаболического» стеатоза печени при вирусном гепатите [161]. К примеру, у значительной части больных ХГС при отсутствии ожирения и сахарного диабета выявляется жировое поражение гепатоцитов, что позволяет предполагать роль вируса в развитии «вирусного» стеатоза печени при ХГС [289]. По данным I.J. Hickman et al. (2003) гиперинсулинемия и инсулинорезистентность, оцениваемая по индексу HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance), взаимосвязаны со стадией фиброза [238]. По мнению B.L. Bressler et al. (2003) наличие стеатоза и метаболических нарушений является отрицательным фактором, ухудшающим прогноз терапии [160]. Таким образом, необходимо уточнять значение метаболических изменений, влияющих на течение и прогрессирование ФП.

Разработка способов диагностики стадии ФП также оказалась в числе актуальных задач современной медицины. Несмотря на то, что пункционная биопсия печени сохраняет значение «золотого стандарта» в оценке стадии фиброза, ее инвазивность и сложность значительно ограничивают возможности использования [63, 326, 336, 341].

Существует ряд инструментальных методик, таких, как ультразвуковая эластография (УЗЭ) и магнитно-резонансная эластография, позволяющих измерить эластичность печеночной ткани и ,таким образом, оценить выраженность ФП. Данные методы имеют достаточно высокую точность в определении стадий фиброза [177, 217, 267, 355]. Главными недостатками этих методик является необходимость использования специализированного и

дорогостоящего медицинского оборудования, специально обученного и высококвалифицированного персонала, а также ряд противопоказаний и ограничений для проведения процедуры: например – беременность, ожирение. Комбинация эластографии с применением сывороточных маркёров фиброза повышает информативность и точность оценки стадии фиброза [36].

В настоящее время для диагностики ФП предложено множество лабораторных тестов, основанных на измерении концентрации тех или иных веществ в сыворотке крови [109, 114, 118, 119, 121, 313]. Среди них используются как прямые маркеры, непосредственно участвующие в процессе фиброгенеза, так и непрямые показатели, отражающие снижение функциональной активности органа. Однако, ни один из известных лабораторных тестов не является специфичным для печени, а его значение может изменяться под влиянием причин, не связанных с гепатофиброзом. Этим, в частности, объясняется невысокая диагностическая эффективность многих лабораторных тестов и панелей, особенно в отношении начальных стадий фиброза. Хотя с помощью применения гепатопанелей удается избежать биопсии более, чем у 50% больных ХЗП на стадиях выраженного фиброза [311, 313].

На скорость формирования ФП могут оказывать влияние генетические особенности хозяина. Особый интерес представляет изучение однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) генов, продукты которых участвуют в механизмах развития и прогрессирования ФП. Несмотря на значительное число исследований, посвященных поиску взаимосвязи между ОНП генов-кандидатов и темпами развития ФП, а также ответом на этиотропную терапию, достоверные данные получены для небольшого числа генов. В ряде исследований приводятся противоречивые результаты, что, вероятно, связано с разными критериями включения больных в сравниваемые группы, разными схемами лечения и этнической неоднородностью групп [1, 44, 71, 100, 129, 130, 140, 316].

Вопросы антифибротической терапии, которая должна включать воздействие на все патогенетические звенья фиброгенеза, как самостоятельного подхода давно обсуждаются в клинической практике [57, 67, 90, 260, 282].

Однако, направления в лечении ФП являются в основном перспективными и до настоящего времени каких-либо четких стандартов лечения фиброза не разработано [57, 58, 67, 69, 144].

На сегодняшний день в качестве основного направления лечения заболеваний печени используется принцип устранения этиологического фактора фиброза [39, 57, 67]. Во многих исследованиях приводятся данные по антифибротическому действию интерферонов преимущественно пролонгированного действия. Показано, что эластографические показатели улучшаются в ходе этиотропной терапии, особенно при быстром вирусологическом ответе [2, 75, 141, 165, 192, 229, 237, 283, 284]. Если терапия оказалась успешна и репликативная активность вируса стойко подавлена, прекращается дальнейшее прогрессирование фиброза, сохраняется функциональная активность печени и заметно сокращается риск развития осложнений [165, 192, 194, 229, 237, 284]. По данным некоторых авторов у пациентов, не достигших устойчивого вирусологического ответа, также наблюдается снижение степени ФП [37].

Актуальным представляется комплексная оценка влияния этиотропой терапии препаратами интерферона, используемыми в клинической Российской практике на основные патогенетические звенья и темпы прогрессирования ФП.

Изложенные выше позиции послужили предпосылкой для определения цели и задач настоящего исследования.

Цель работы.

Сформировать комплекс инструментальных, лабораторных и генетических показателей основных механизмов фиброгенеза печеночной ткани, установить их диагностическую ценность и прогностическую значимость при хронических заболеваниях печени.

Задачи исследования.

1. Обозначить комплекс лабораторных параметров, отражающий основные механизмы фиброгенеза при хронических заболеваниях печени.

2. Исследовать корреляционные взаимосвязи между инструментальными и лабораторными характеристиками выраженности фиброза при хронических заболеваниях печени.
3. Установить лабораторные маркеры, имеющие диагностическое значение для дифференциации стадий фиброза печени.
4. Обосновать прогностическую ценность выявленных лабораторных маркеров для определения темпов прогрессирования фиброза и перехода в цирроз печени.
5. Изучить частоту встречаемости аллельных пар по полиморфным локусам генов гиалуроновой кислоты (G/A), каталазы (G262A), глутатион-пероксидазы (C718T), аполипопротеина-B (R3500Q), интерлейкина-28B (C/T), интерлейкина-17 (C11139G) и васкулоэндотелиального фактора роста (G-634C) у пациентов с хроническим гепатитом и в когорте здоровых лиц Пермского края.
6. Исследовать комбинации аллельных вариантов исследуемых генов в зависимости от тяжести поражения печени и темпа развития фиброза и выявить аллели риска, ассоциированные с прогрессирующим типом течения гепатита.
7. Оценить влияние терапии интерферонами короткого и пролонгированного действия на обратное развитие фиброза при хроническом гепатите.

Научная новизна исследования

Новизна исследования определяется комплексной клинико-инструментальной и лабораторно-генетической характеристикой выраженности и темпов развития фиброза при хронических заболеваниях печени вирусного и алкогольного генеза.

При комплексном исследовании проанализированы и сопоставлены особенности лабораторных маркеров, отражающих основные механизмы фиброгенеза при хронических заболеваниях печени, и выделены наиболее значимые для характеристики стадийности фиброза и перехода его в цирроз.

Выявлены значимые ассоциации степени плотности печени по данным ультразвуковой эластографии и величиной лабораторных параметров: гиалуроновой кислоты, альфа-фетопротеина, альбумина, тромбоцитов, ферритина и провоспалительных цитокинов.

Впервые разработан с применением метода множественной регрессии и предложен математический модуль для оценки стадии фиброза, построенный на основе непрямых лабораторных маркеров фибропроцесса при хроническом гепатите (приоритетная справка на заявку № 2015-121-005 от 20.06.2015г.). Установлено, что стратификация стадий фиброза возможна по пороговым значениям гиалуроновой кислоты, альбумина, фактора некроза опухоли-альфа и тромбоцитов.

Доказана высокая предикторная ценность маркеров фиброза и воспаления: гиалуроновой кислоты, альфа-фетопротеина, интерлейкина-6 и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора для прогнозирования риска цирроза печени в исходе хронического вирусного гепатита .

На основании комплексного обследования пациентов с хроническим гепатитом оценены темпы прогрессирования заболевания (скорость развития фиброза) и определена совокупность лабораторных показателей, взаимосвязанных с прогрессией фиброза печени. Доказано, что прогрессирование фиброза связано с активацией процессов неоангиогенеза, сосудистого ремоделирования, нарастанием уровня ферритина, обменными нарушениями и истощением механизмов антиоксидантной защиты.

Выявлено, что для прогнозирования скорости развития фиброза при хроническом гепатите хорошей предикторной ценностью обладают уровень гиалуроновой кислоты, альфа-фетопротеин и концентрация глюкозы.

Впервые установлено, что носительство аллеля С гена васкулоэндотелиального фактора роста *VEGFA* (G-634C) в виде гомозиготы СС является фактором риска хронизации гепатита С.

Впервые установлено, что полиморфизмы генов каталазы *CAT* (G262A), глутатион-пероксидазы *GPX4* (C718T), *IL28B* (C/T) и васкулоэндотелиального

фактора роста *VEGFA* (G-634C) определяют индивидуальные особенности поражения печени. Установлены аллели риска, ассоциированные с прогрессирующим типом течения хронического гепатита С – аллель гена *CAT* +262A, гена *GPX4* +718T, аллель Т гена *IL28B* и аллель -634C гена *VEGFA,* и определяющие медленное течение заболевания – генотип гена *CAT* +262 GG, гена *GPX4* +718 CC, генотип CC гена *IL28B* и -634 GG гена *VEGFA.*

Проведена оценка возможности обратного развития фиброза, как мишени для терапевтического воздействия при хроническом гепатите. Выявлено, что терапия интерферонами короткого и пролонгированного действия сопровождается уменьшением выраженности фиброза за счет снижения холестаза, воспаления, процессов сосудистой перестройки и пероксидации липидов при нормализации механизмов антиоксидантной защиты и метаболических показателей, что приводит к снижению скорости его развития. Положительная динамика лабораторных маркеров (гиалуроновой кислоты, гамма-глутамилтранспептидазы, цитокинов, малонового диальдегида, антиоксидантных ферментов) отражает обратное развитие фиброза печени при интерферонотерапии хронического гепатита препаратами короткого и пролонгированного действия.

Сформулирована концепция влияния патогенетических и генетических механизмов на скорость развития фиброза. Установлено, что развитие и прогрессирование фиброза при хронических заболеваниях печени, как вирусного, так и алкогольного генеза связано с активацией механизмов неоангиогенеза, сосудистого ремоделирования, нарушением обмена железа, гипогликемией и истощением антиоксидантной защиты, выраженность которых маркирует степень поражения гепатоцитов, темпы развития фиброза и предопределяет его исход в цирроз печени.

Практическая значимость работы.

Разработана модель диагностического лабораторного алгоритма для комплексного обследования пациентов с хроническими заболеваниями печени, позволяющего оценить выраженность, темпы и генетический риск

прогрессирования фиброза, прогнозировать развитие цирроза и оценить антифибротическую эффективность терапии.

Показано, что применение расчетных пороговых значений гиалуроновой кислоты и индекса фиброза с использованием значений альбумина, фактора некроза опухоли-альфа и тромбоцитов позволяет дифференцировать стадии фиброза печени.

Определены лабораторные маркеры и рассчитаны их пороговые значения (гиалуроновая кислота, альфа-фетопротеин, интерлейкин-6 и гранулоцитарный колониестимулирующий фактор) для прогноза риска развития цирроза печени.

Прогнозирование скорости развития фиброза при хроническом гепатите определяется увеличением уровней гиалуроновой кислоты, альфа-фетопротеина и уменьшением концентрации глюкозы.

Выявление однонуклеотидных полиморфизмов генов *CAT* (G262A), *GPX4* (C718T), *IL28B* (C/T) и *VEGFA* (G-634C) у больных хроническим гепатитом указывает на дополнительный риск прогрессирования фиброза печени.

В качестве лабораторного критерия оценки антифибротического эффекта терапии хронического гепатита препаратами интерферона короткого и пролонгированного действия предложен комплекс следующих показателей: гиалуроновая кислота, гамма-глутамилтранспептидаза, фактор некроза опухоли-альфа, интерлейкин-6, васкулоэндотелиальный фактор роста, малоновый диальдегид, каталаза и глутатион-пероксидаза. Положительная динамика данных параметров свидетельствует об обратном развитии фиброза.

Положения, выносимые на защиту.

1. Комплекс основных показателей, отражающих процессы активации перекисного окисления липидов, истощения механизмов антиоксидантной защиты, гиперпродукции провоспалительных цитокинов, нарушения обмена железа, усиления процессов регенерации и неоангиогенеза в печени маркируют выраженность фиброза и его прогрессирование при хронических заболеваниях печени.

2. Предложены лабораторные модули для стратификации стадий фиброза на основании пороговых значений гиалуроновой кислоты и индекса фиброза.
3. Прогноз темпов прогрессирования фиброза и перехода его в цирроз печени основан на изменении ряда показателей предлагаемого лабораторного комплекса (гиалуроновая кислота, альфа-фетопротеин, глюкоза, интерлейкин-6 и гранулоцитарный колониестимулирующий фактор).
4. Индивидуальные особенности прогрессирования фиброза печени определяются полиморфизмом генов каталазы *CAT* (G262A), глутатион-пероксидазы *GPX4* (C718T), интерлейкина *IL28B* (C/T) и васкулоэндотелиального фактора роста *VEGFA* (G-634C).
5. Положительная динамика инструментально-лабораторных маркеров фиброза отражает его обратное развитие при интерферонотерапии хронического гепатита препаратами короткого и пролонгированного действия.

Внедрение в практику

Теоретические положения и практические результаты диссертационного исследования применяются в учебном процессе кафедр внутренних болезней и поликлинической терапии, факультетской терапии № 2 и профессиональных болезней с курсом профболезней ДПО, инфекционных болезней и клинической лабораторной диагностики факультета ДПО ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава России, в учебном процессе на кафедре лабораторной диагностики Института последипломного образования ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедры факультетской терапии ГБОУ ВПО «Кировская государственная медицинская академия» Минздрава России.

Результаты исследования внедрены в работу лабораторных подразделений ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» г. Перми, лечебно-диагностического процесса ФГБУ «3 Центральный военный клинический госпиталь им. А.А.

Вишневского» Минобороны России г. Москвы, ГБУЗ ПК «Клиническая медико-санитарная часть № 1», ГБУЗ ПК «Пермская краевая клиническая инфекционная больница», ООО «Центр профессиональной медицины», ООО «Профессорская клиника» г. Перми.

Личный вклад автора.

Личный вклад автора заключался в непосредственном участии во всех этапах диссертационного исследования: в планировании, организации и проведении исследований по всем разделам работы, генерации идеи, углубленном анализе научной литературы, разработки дизайна и программы клинико-лабораторно-инструментальных исследований, формировании цели и задач исследования. Автор лично участвовала в наборе клинического материала: клиническое обследование больных ХЗП, организовывала преаналитический этап и контролировала забор биоматериала. Автором проводилось обобщение и анализ полученных клинических и лабораторно-инструментальных результатов исследования, разработана модель патогенетических механизмов развития и прогрессии фиброза и модель лабораторного алгоритма, позволяющего оценить выраженность, темпы и генетический риск прогрессирования фиброза, прогнозировать развитие цирроза и оценить антифибротическую эффективность терапии. Вся полученная информация статистически обработана и систематизирована лично автором.

Апробация работы и публикации.

Выводы и результаты исследования доложены на научной сессии ПГМА (Пермь, 2013), международной конференции в Баку (Азербайджан, 2013), 12-м Европейском конгрессе по внутренней медицине в Праге (Чехия, 2013), краевой научно-практической конференции Российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики «Инновационные технологии лабораторного анализа и новые возможности их клинического применения» (Пермь, 2014), краевой научно-практической конференции «Диагностическая значимость лабораторных тестов в практической медицине» (Пермь, 2014), научной сессии молодых ученых ПГМА им. Е.А. Вагнера «Навстречу 100-летию высшего медицинского

образования на Урале» (Пермь, 2014), 13-м Европейском конгрессе по внутренней медицине в Женеве (Швейцария, 2014), Пражских европейских днях по внутренней медицине (Чехия, 2014), XX Российской гастроэнтерологической неделе (Москва, 2014), XIX российском конгрессе «Гепатология сегодня» (Москва, 2014), научной сессии ПГМА им. Е.А. Вагнера на секции «Актуальные вопросы лабораторной диагностики» (Пермь, 2015), краевой научно-практической конференции «Лабораторная диагностика – возможности теории и практики» (Пермь, 2015), X Национальном конгрессе терапевтов (Москва, 2015), X1X Международной научной конференции «Здоровье нации – XX1 век» (Светлогорск, 2015).

Апробация проведена на расширенном заседании кафедры госпитальной терапии, кафедры внутренних болезней и поликлинической терапии, кафедры факультетской терапии № 2 и профессиональных болезней с курсом профболезней ДПО, кафедры эндокринологии и клинической фармакологии, кафедры клинической лабораторной диагностики факультета ДПО, кафедры инфекционных болезней, кафедры патологической анатомии с секционным курсом, кафедры патологической физиологии, сотрудников ЦНИЛ ГБОУ ВПО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России и представителей ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», протокол № 5/2 от от «05» февраля 2016 г.

По теме диссертации опубликовано 33 печатные работы, из них 16 – в рекомендуемых ВАК изданиях. Получены 2 приоритетные справки на изобретение: «Способ диагностики стадии фиброза печени у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С» заявка № 2015-121-005 от 20.06.2015г. и «Способ диагностики стадии фиброза печени у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С» заявка № 2015-139-205 от 14.09.2015г.

Опубликована 1 монография в соавторстве «Эндотелиальная дисфункция и фиброз печени» (2012 г.) и 2 методические рекомендации, утвержденные ЦКМС ГБОУ ВПО ««Пермский государственный медицинский университет имени

академика Е.А. Вагнера» Минздрава России (протокол № 9 от 2 декабря 2015 г.) и Министерством здравоохранения Пермского края от 25.01.2016г.

Структура и объем диссертации.

Диссертация представляет собой рукопись на русском языке объемом 253 страницы машинописного текста, состоит из введения, семи глав, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, содержащего 368 источников, из которых 128 отечественных и 240 зарубежных. Работа иллюстрирована 52 таблицами, 53 рисунками и 5 клиническими примерами.

Диссертация выполнена на кафедре клинической лабораторной диагностики факультета дополнительного профессионального образования (зав. кафедрой – д.м.н., доцент А.П. Щёкотова) ГБОУ ВПО ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера Минздрава России (ректор – заслуженный деятель науки, профессор И.П. Корюкина).

Исследование было проведено в соответствии с Хельсинской декларацией (Хельсинки, Финляндия 1964 г.) и одобрено Этическим комитетом ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера (Пермь, 2013 г.) на проведение научного исследования с участием человека. От каждого пациента получено информированное согласие на участие в исследовании. При выполнении работы, написании статей, монографий и изобретений конфликта интересов не возникало.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О МЕХАНИЗМАХ РАЗВИТИЯ И МЕТОДАХ ДИАГНОСТИКИ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ

1.1. Фиброз как маркер тяжести и прогрессирования хронических заболеваний печени

Во многих развивающихся странах заболевания печени входят в первую пятерку, а цирроз и рак печени - в первую десятку причин смертности. Диагностика и мониторинг динамики ХЗП – одна из самых актуальных задач современной гепатологии. Основной путь прогрессирования хронических диффузных заболеваний печени, приводящий к ее повреждению – это процесс активации фиброгенеза [23, 39, 57, 73, 274, 340, 362].

Основными этиологическими факторами в структуре патологии печени являются инфекции вирусами гепатита В и С, злоупотребление алкоголем и неалкогольная жировая болезнь печени. Инфекция, вызванная HCV - одна из ведущих причин хронической патологии печени во всем мире. По мнению экспертов ВОЗ гепатит С – одно из трех наиболее социально значимых инфекционных заболеваний. По разным данным HCV в мире инфицировано 130 - 170 миллионов человек, что составляет приблизительно 3% населения Земли [134, 187, 192, 233, 263, 292, 296, 325, 344, 358]. Распространенность инфекции значительно различается в зависимости от географического региона и внутри исследуемых популяций. В Европе официально зарегистрировано примерно 17,5 миллионов инфицированных лиц, в США вирусом гепатита С инфицировано около 14 миллионов [188, 263]. В России заболеваемость ХГС составляет в среднем 39,9 на 100 тысяч населения и остается одной из основных проблем отечественного здравоохранения. В общей структуре хронических вирусных гепатитов доля гепатита С в 2012 году составила 74,4% [36, 60, 107, 124]. Для гепатита С характерна высокая частота формирования хронической инфекции (50-80% острых форм) [36, 38, 39, 57, 60]. У пациентов с ХГС цирроз печени формируется в 5–10% случаев через 10 лет после инфицирования, в 20–40% - через 20-30 лет [10, 15, 34, 36]. Хроническая HCV инфекция повышает риск

гепатоцеллюлярной карциномы в 17 раз. Ежегодно гепатоцеллюлярная карцинома развивается у 1–5% HCV-инфицированных лиц, а спустя 20 лет после начала заболевания регистрируется у 4% больных. [189, 192, 294, 325, 339].

По данным ВОЗ вирусом гепатита В в мире инфицировано приблизительно 2 млрд. человек [21, 125, 163]. Частота формирования ЦП при этой инфекции составляет 8-20%. Инфекция вирусом гепатита В повышает риск гепатоцеллюлярной крциномы по разным данным в 20-200 раз [38, 163, 291]. Доказано, что эффективная терапия позволяет значимо снизить риск развития таких осложнений вирусных гепатитов, как ЦП и гепатоцеллюлярная карцинома [38, 163].

В России продолжает расти заболеваемость алкогольным гепатитом вслед за увеличивающимся потреблением алкоголя. Доля алкоголя в этиологической структуре ЦП в России составляет 45% [62, 103, 257]. До половины случаев гепатоцеллюлярной карциномы развивается на фоне алкогольной болезни печени [257, 356].

Осложнения, связанные с ЦП, могут привести к смертельному исходу с частотой примерно 4% в год. Смертность от терминальной стадии ФП – цирроза – занимает 9-е место в мире среди всех причин смерти и 6-е – среди лиц наиболее трудоспособного возраста, составляет от 14 до 30 случаев на 100 тыс. населения. В России эти показатели значительно выше и, по разным источникам, достигают 60,5 случая на 100 тыс. населения [34]. У пациентов с диагностированной гепатоцеллюлярной карциномой вероятность смертельного исхода в течение первого года составляет 33–53% [363].

Патогенез формирования и прогрессирования ЦП включает несколько факторов, основными из которых являются некрозы гепатоцитов и прогрессирующий фиброз [127]. В этой связи, комплексное изучение патогенетически значимых механизмов развития и прогрессирования ФП является крайне актуальной задачей.

Степень фиброза является достаточно чувствительным неспецифическим маркером патологических изменений в печени. За последние десятилетия

вопросам оценки ФП посвящена масса как клинических, так и экспериментальных исследований. Предприняты попытки стандартизации правил ведения пациентов с выраженным фиброзом и ЦП, определена тактика применения ряда патогенетических антифибротических препаратов. Однако, остаются нерешенными вопросы прогрессирования фиброза, как прогностического маркера фатальных осложнений и методы коррекции подобных нарушений. Во многом результаты проведенных исследований остаются довольно противоречивыми, что значимо затрудняет работу клиницистов [39, 57, 213, 214]. Механизм развития ФП вытекает из многогранности морфологической реакции печени на повреждение, а именно: некроза, апоптоза, стеатоза, гемохроматоза, тромбоза, адаптации, пролиферации гепатоцитов и собственно фиброзных изменений. При этом, независимо от этиологического фактора только выраженность фиброгенеза определяет, на какой стадии находится заболевание. То есть фиброз служит именно тем показателем, который отражает темпы прогрессирования ХЗП [37, 57].

За последние три десятилетия оценка значения ФП в практической медицине претерпела кардинальные изменения: от «стабильного состояния, отражающего излечение с анатомическим дефектом» до «жизненно важного, динамичного синдрома практической гепатологии, определяющего прогноз больных с хроническими заболеваниями печени». Достижения молекулярной биологии, иммунологии и экспериментальной гепатологии позволили уточнить представление о печеночном фиброгенезе, который в настоящее время рассматривается, как динамический процесс с включением каскада событий: повреждение печеночных клеток с компонентами оксидативного стресса и мобилизацией воспалительных клеток, реализующих многочисленные медиаторы межклеточного взаимодействия, которые вызывают последующую активацию звездчатых клеток печени [213, 214, 272]. Количество активированных звездчатых клеток печени увеличивается, происходит их пролиферация, изменение фенотипа и трансформация в миофибробласты – главные продуценты избыточного количества компонентов грубой фиброзной ткани во внеклеточном матриксе

печени. Нарушение равновесия между фибротическими и антифибротическими факторами ведет к увеличению в 3-10 раз компонентов внеклеточного матрикса и изменению его состава (преобладанию коллагена 1 и 111 типа). Активация звездчатых клеток печени – ведущий механизм фиброгенеза. При этом, необходимо отметить, что в процессе фиброгенеза существует сложное взаимодействие между различными типами печеночных клеток. Клетки Ито, подвергаясь регулирующим влияниям вегетативной нервной системы, вазоактивных веществ, цитокинов, хемокинов, интегринов, способны сокращаться, изменяя просвет синусоидов. Макрофаги, в свою очередь выделяют вазоактивные субстанции, влияющие на функциональную активность клеток Ито и эндотелиоцитов, которые вырабатывают эндотелин и васкулоэндотелиальный фактор роста (ВЭФР), стимулирующий процессы сосудистой перестройки и неоангиогенеза в печени [39, 64, 85, 213, 214, 272, 309, 340].

К предикторам ФП, ассоциированных с увеличением скорости его развития и определяющих индивидуальный прогноз пациента относят: длительность воздействия этиологического фактора, пожилой возраст на момент заражения, мужской пол, генотип вируса (HCV-1), высокий уровень виремии, сопутствующие другие вирусы (микст-гепатиты, ВИЧ), холестаз, инсулинорезистентность, синдром перегрузки железом, сопутствующая сердечная недостаточность, злоупотребление алкоголем (более 50 г в день) [27, 39, 47, 57]. По мнению некоторых авторов усиление фиброза в печени достоверно взаимосвязано с индексом массы тела пациента, содержанием альфа-фетопротеина (АФП), тромбоцитопенией, увеличением СОЭ, гипербилирубинемией, гипоальбуминемией [27, 112]. В литературе встречаются сведения об ассоциации скорости развития фиброза уровнем цитолитических ферментов, АФП, гипергликемией, повышением уровня сывороточного железа, выраженностью перипортальных некрозов и портальной инфильтрации, наличием лимфоидных фолликулов в ткани печени и об отсутствии связи темпов прогрессии фиброза с активностью репликации и генотипом вируса [27, 112]. По

данным J. C. Hoefs et al. (2011) быстрая прогрессия фиброза коррелирует с неблагоприятными клиническими исходами ХГС [239].

Таким образом, патогенез ФП на сегодняшний день рассматривается, как эволюционный процесс, включающий интимные взаимодействия всех клеток печени (звездчатых клеток, клеток Ито, макрофагов, эндотелиоцитов) и представляющий собой последовательную цепь событий: повреждение, активацию фиброз-продуцирующих клеток, эндотелиальную дисфункцию, развитие внутрипеченочной (синусоидальной) портальной гипертензии, стимуляцию неоангиогенеза с последующим накоплением соединительной ткани в органе. Соответственно, предикторами активного фиброгенеза будут являться не только факторы, стимулирующие рост соединительной ткани, но и причины, усугубляющие вышеописанные факторы этого многогранного процесса [39]. В результате формируются фиброзные септы и узлы регенерации, что приводит к нарушению печеночной архитектоники и усугубляет нарушение функций печени. Данное определение подразумевает, что фиброз печени – явление необратимое. Однако, традиционный взгляд на ЦП, как на обязательный и необратимый этап фиброза, развивающегося при ХГ, в последние годы, вызывает сомнение [306, 309]. Ряд авторов предлагает выделять стадию «обратимого цирроза печени». Существуют экспериментальные доказательства обратимости процессов ФП и цирроза [64, 194, 199]. Достигнутый прогресс привел к пониманию того, что эффективная этиотропная и антифибротическая терапия существенно изменит ведение таких пациентов и обеспечит благоприятный прогноз даже при уже развившемся ЦП. В тоже время, клиническая картина ФП, методы его неинвазивной диагностики и динамического контроля, а также возможности фармакологического действия остаются во многом неизученными [67].

Весомыми аргументами в пользу необходимости изучения фиброза печени служат следующие обстоятельства: пациенты с выраженным фиброзом входят в группу высокого риска развития осложнений цирроза и рака печени [66, 67], тяжелый фиброз влияет на эффективность курса лечения, может удлинять сроки терапии и способствовать назначению увеличенных доз препаратов [65, 281], а

возможность обратного развития фиброза на фоне лечения служит основным критерием эффективности лекарственной терапии [64, 66, 281, 310].

В этой связи, ранняя диагностика, определение лабораторных и генетических маркеров фиброза, разработка и внедрение малоинвазивных, эффективных и доступных методов оценки выраженности и темпов прогрессирования ФП, а также способов его коррекции представляются очень важной задачей для современной практической гепатологии [39, 109]. Решение этих проблем дает возможность диагностировать ранние стадии фиброза, а следовательно, эффективно лечить.

1.2. Характеристика методов диагностики фиброза печени

Широкая распространенность ХЗП требует точной оценки стадии фиброза с целью определения тактики лечения пациентов. Количественные показатели тяжести фиброза – важнейший клинический параметр, определение которого имеет решающее значение для правильной диагностики фиброза, выбора адекватной терапии и мониторинга ее эффективности [157]. Методы диагностики ФП представлены на рисунке 1.

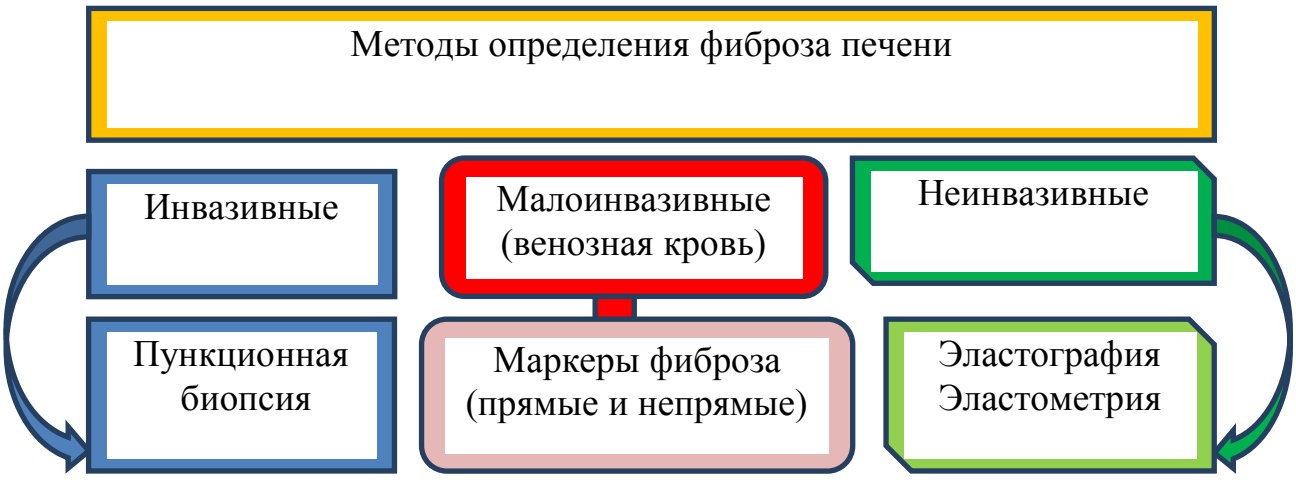

Рис. 1. Методы определения фиброза печени.

Биопсия печени

Золотой стандарт диагностики фиброза – гистологическое исследование биоптата печени, позволяющее оценить наличие патогномоничных морфологических признаков, определить изменения структуры органа и степень выраженности развития соединительной ткани [148, 336, 341].

Общепринятыми являются три основные и стандартизированные системы градации ФП, основанные на результатах биопсии печени: METAVIR, индекс гистологической активности по Knodell и модифицированный индекс гистологической активности по Ishak [150, 244, 255]. Биопсию печени называют золотым стандартом, потому что, кроме стадии, степени и индекса фиброза, морфологи в своем заключении отражают апоптоз, поражение желчных протоков, некрозы и дистрофию гепатоцитов, изменение синусоидов и наличие воспалительного инфильтрата [63, 72].

Однако, более широкое внедрение биопсии печени в клиническую практику специализированных отделений ограничивается наличием нескольких проблем: значительные различия результатов в различных образцах, полученных из одного органа, причем, при определении стадии фиброза такие различия могут достигать 40 % [149], высокая внутри- и меж - патологическая вариабельность результатов, нехватка квалифицированных специалистов, способных объективно описать и дать количественную оценку гистологическим признакам, инвазивный характер процедуры, опытом врача, выполняющего биопсию, частые отказы пациентов от биопсии из-за страха перед ее проведением, возможные осложнения - от незначительных (около 30% пациентов испытывают боль) до более тяжелых (включая смертность до 0,17% случаев) [63, 72, 281, 326, 336, 341]. Сравнение результатов парных биопсий (из правой и левой долей печени), проведенных у пациентов, инфицированных HCV показало, что различия в стадии фиброза печени обнаруживаются в 33,1–40% случаев [149].

Таким образом, биопсия печени не во всех случаях может считаться окончательным золотым стандартом для оценки стадии и прогрессирования фиброза. А инвазивность, сложность проведения и ошибки интерпретации

биопсии требуют разработки новых методов диагностики ФП: безопасных, интегративных и точных.

Неинвазивные инструментальные методы оценки фиброза

В последние годы возрос интерес к неинвазивным методам определения ФП, в основе которых лежит исследование упругих свойств мягких тканей, или, другими словами, эластичности ткани, которая зависит от ее плотности, а следовательно, от уровня фиброгенеза [68].

Основными критериями выбора метода инструментальной диагностики являются информативность, доступность, соотношение цены и эффективности [68, 102]. Одним из многообещающих методов диагностики ФП в настоящее время считается эластография печени [26, 51, 68, 156].

Существуют два основных направления УЗЭ печени: статическая эластография и динамическая эластография (эластометрия). Статическая эластография даёт возможность оценить эластичность печени, в основе которой лежит плотность ткани, прямо пропорциональная стадии фиброза печени. Динамическая эластография позволяет получать показатели эластичности печени в числовом выражении [51, 68, 212, 261, 277, 278, 290]. При этом, УЗЭ определяет эластичность на участке печеночной ткани в 500 раз превышающем объем биоптата [68, 212, 290].

К преимуществам этого метода, несомненно, следует отнести безболезненность, неинвазивность, исключающую риск любых осложнений, возможность применять УЗЭ в амбулаторных условиях и неоднократно повторять процедуру для оценки ФП в динамике. Но есть ряд ограничений и противопоказаний для данной процедуры, такие, как асцит, выраженная подкожная клетчатка, беременность [177, 261]. Диагностическую точность эластографии повышают возраст пациента ≤ 50 лет, ИМТ ≤ 25 кг/м2, отсутствие стеатоза по данным морфологического исследования ткани печени [68].

Диагностические характеристики данного метода изучены в многочисленных исследованиях. По данным О.Н. Коноваловой (2009) диагностическая точность метода УЗЭ сопоставима с данными морфологического

исследования печени и составляет в выявлении фиброза (стадии > F2) – 86%, а в выявлении цирроза печени - 90% [45].
По результатам нескольких мета-анализов при гепатите В чувствительность и специфичность УЗЭ составляет соответственно 70-79% и 78-84% (AUROC 0,84-0,87) для выраженного фиброза (≥F2) и 83-87% и 81-91% (AUROC 0,92-0,95) для ЦП [74, 177, 338, 351]. В случае ХГС данные метаанализа показывают подобные значения чувствительности и специфичности: соответственно 64-83% и 83-87% (AUROC 0,83) для выраженного фиброза (≥F2) и 84-98% и 84-94% (AUROC 0,95-0,97) для ЦП [68, 74, 333]. В ряде работ чувствительность и специфичность УЗЭ в оценке цирроза составляют соответственно 87-100% и 89-90% (AUROC 0,93-0,99) [217, 220, 252, 279, 336, 366]. Методика реализуется с помощью специализированного аппарата Fibroscan (Echosens, Франция).

Эластографические показатели отражают выраженность ФП, однако, для повышения диагностической ценности неинвазивных методов представляется целесообразным их комбинированное использование [51, 102]. Применение компрессионной эластографии при эндосонографии позволяет улучшить раннюю диагностику фиброзного процесса печени при гепатите и стеатозе [59].

Наиболее точным из инструментальных методов оценки фиброза печени является магнитно-резонансная эластография. С помощью данного метода выявлены различия в плотности печени у пациентов со стадией фиброза F0 и здоровых людей. По результатам ряда мета-анализов чувствительность и специфичность магнитно-резонансной эластографии при любой стадии фиброза составляет 87–100% и 86–100% (AUROC 0,95 - 0,99) соответственно [243, 253, 353, 355]. Однако, сложность проведения процедуры и необходимость применения дорогостоящего оборудования не позволяют использовать данный метод в широкой клинической практике.

В последние несколько лет происходит активное развитие технологий, основанных на непосредственном определении эластичности печеночной ткани с помощью ультразвука. В 2009 году был предложен новый метод - ARFI (Acoustic radiation force impulse) [219]. Исследование проводят с применением

специального УЗИ-сканера Siemens Acusson (Siemens, Германия). При этом оценивается скорость распространения ультразвуковой волны в ткани печени. Сравнительные исследования УЗЭ и ARFI показывают сопоставимую диагностическую значимость методов [156, 168, 180, 217]. По данным мета-анализа чувствительность и специфичность данного метода в отношении выраженного фиброза (≥F2) составляет 74% и 83% соответственно (AUROC 0,85), в отношении цирроза – 87% и 87% соответственно (AUROC 0,93) [156].

В 2011 году была опубликована работа, описывающая еще один ультразвуковай метод диагностики гепатофиброза - эластография сдвиговой волны (Real Time Shear Wave Elastography, SWE**)** [147]. В данной методике с помощью специализированного ультразвукового сканера Aixplorer system (SuperSonic Imagine, Франция) измеряется скорость распространения поперечной механической сдвиговой волны в ткани органа, что позволяет судить о его эластичности. Отдельные публикации показывают, что эластография сдвиговой волны превосходит УЗЭ по способности диагностировать умеренный фиброз и цирроз: AUROC 0,88-0,95 и 0,97-0,98, соответственно [147, 206, 267, 330, 361]. Точность этого метода для диагностики значительного фиброза составляет по одним данным 90,9% [342], по другим данным - 93,9% (AUROC = 0,939; 95% Cl: 0,865-1,000; p<0,001 при точке разделения 15,4 кПа) [152].

Результаты эластографии широко используются в целях принятия решения о начале и прогнозировании ответа на терапию, так как известно, что наличие выраженного фиброза отрицательно влияет на результаты лечения. Однако, низкая чувствительность эластографии на стадиях фиброза F0-F1 диктует необходимость проведения биопсии печени или использования других тестов с целью уточнения стадии фиброза у этих пациентов.

Лабораторные методы диагностики фиброза печени

За последнее десятилетие значительные усилия были направлены на развитие неинвазивных тестов оценки ФП. Результаты этих тестов являются досточно точными, контролируемыми и воспроизводимыми. Существенные преимущества современных методов неинвазивной диагностики перед биопсией

печени – простота, информативность на любой стадии фиброза, возможность проследить за динамикой процесса, удобство применения, как скрининг-метода для пациентов из групп риска, возможность использования в амбулаторных условиях, что принципиально важно для определения ранних стадий заболевания, своевременного назначения терапии и предотвращения дальнейшего прогрессирования фиброза [68, 72, 157, 320].

Разработки неинвазивных методов диагностики фиброза ведутся в нескольких направлениях. В настоящее время предложено несколько десятков биохимических показателей, претендующих на роль маркеров ФП [114, 115, 116, 117, 118, 119, 121, 122, 123, 264, 265, 272, 311, 313, 346, 359]. Сывороточные маркеры фиброза преимущественно характеризуют динамику и скорость процесса развития соединительной ткани в печени [306]. В 2003 г. впервые был опубликован стандарт оценки ФП – STARD (The Standards for Reporting of Diagnostic Accurary Studies), включающий 25 неинвазивных тестов [155, 298]. В 2015г. европейскими экспертами предложен расширенный стандарт оценки ФП с помощью неинвазивных тестов – Liver-FibroSTARD [157].

Сывороточные маркеры фиброза условно разделяют на две группы: прямые (класс 1), или биохимические показатели, которые экспрессируются внеклеточным матриксом печени и измеряются с помощью специальных методик в сыворотке крови, и непрямые (класс 11), к которым можно отнести показатели рутинных лабораторных тестов [19, 109].

Прямые лабораторные маркеры фиброза

Прямые маркеры (класс 1) – это молекулы, характеризующие метаболизм внеклеточного матрикса (фиброгенез и фибролиз) и/или изменения в стеллатных клетках, которые доминируют в профиброзных клетках. Такие прямые биомаркеры фиброза - это фрагменты клеточного матрикса печени, образованные стеллатными клетками и молекулы, участвующие в регуляции прогрессии и регрессии фиброза. Они отражают распространенность и выраженность ФП и дают оценку содержанию, степени развития и характеру распределения внеклеточного матрикса в печени. По мнению некоторых исследователей прямые

сывороточные маркеры фиброза обладают большей точностью, чувствительностью и специфичностью для диагностики и дифференциации стадий фиброза по сравнению с непрямыми и позволяют выделить категории пациентов с умеренным (F1-F2) и тяжелым фиброзом (F3-F4) [151].

К этой группе относятся *гиалуроновая кислота, коллагены- I, III, IV, V1 типов и проколлаген 111 типа (N-концевой пептид проколлагена 111 типа – P111NP), гликопротеины - ламинин и YKL-40, ферменты ремоделирования межклеточного матрикса – матриксные металлопротеиназы и тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ 1-го типа, цитокины и факторы роста*.

Гиалуроновая кислота (ГК) – полисахарид, присутствующий в экстрацеллюлярном матриксе. Уровень ГК прямо коррелирует со степенью повреждения печени, что позволяет оценивать степень фиброза [98, 302, 303]. Данные по концентрации ГК при патологии печени достаточно не однородны. По одним данным, ГК позволяет диагностировать минимальный фиброз при ХГ и выраженный фиброз при переходе заболевания в стадию цирроза с чувствительностью 80% и специфичностью 80% по сравнению с биопсией при точке разделения 183,5 нг/мл [328]. По данным других авторов точка разделения ГК для дифференциации фиброза при ХГ от ЦП составляет 100-102,0 нг/мл при чувствительности 100%, специфичности 80-84,6% и эффективности 88%. Точка разделения ГК для диагностики фиброза у пациентов с ХГС от здоровых составляет 59,5 нг/мл [89, 122]. В работе Д.А. Гусева (2006) при сравнительном анализе средних показателей ГК в сыворотке крови в зависимости от стадии ХГС установлено, что между Fl и F2 отсутствовали статистически значимые различия. Однако, при сравнении как стадий Fl с F3, F4, так и стадий F2 с F3, F4 отмечались достоверно значимые различия. Значения ГК в группах тяжелого фиброза и цирроза составляли 70,7±11,7 нг/мл и 258,2±95,7 нг/мл ($p<0,01$) [27]. По данным P. Halfon et al. (2005) определение уровня ГК в сыворотке крови у больных ХГС позволяет с высокой точностью дифференцировать умеренный (F1-F2), тяжелый (F3-F4) фиброз и ЦП. Содержание ГК в крови >237 мкг/л диагностирует ЦП со

специфичностью 99% при прогностической ценности положительного результата – 57%, а значение ≤ 50 мкг/л исключает наличие цирроза при прогностической ценности отрицательного результата 100% [234]. Главная ценность ГК по мнению многих исследователей заключается в возможности исключить выраженный фиброз (F3) и ЦП. Отрицательное прогностическое значение возможности исключить выраженный фиброз и цирроз печени составляет по разным данным 89–93% и 93–100% соответственно [27, 89, 234]. По данным А.П. Щёкотовой с соавт. (2013) диагностическая эффективность ГК для дифференциации ХГ и ЦП составляет 88%, чувствительность и эффективность соответственно 100 и 88% при положительном прогностическом значении 83% и отрицательном прогностическом значении для исключения цирроза при концентрации ниже 100 нг/мл – 100% [122]. В работе A. Voumvouraki et al. (2011) показано, что уровень ГК был повышен у всех пациентов с патологией печени, но наиболее высоких концентраций этот показатель достигал в группе с циррозом и гепатоцеллюлярной карциномой [354].

Среди коллагенов наиболее изучен ***коллаген IV типа***. Концентрация коллагена IV более 280 нг/мл позволяет разграничить ЦП от фиброза F3 с чувствительностью 100% и специфичностью 88% [89, 98].

Другой хорошо изученный прямой маркер фиброза – ***N-концевой пропептид коллагена III типа (PIIINP)***. Коллаген синтезируется звездчатыми клетками в виде белка-предшественника - проколлагена с дополнительными аминокислотными последовательностями. Один из отщепляемых пептидов – PIIINP, позволяет диагностировать цирроз печени по данным отдельных исследований с чувствительностью 79–94% и специфичностью 66–81% [328].

Еще один фермент, участвующий в расщеплении экстрацеллюлярного матрикса - ***YKL-40***. Он экспрессируется звездчатыми клетками и гладкомышечными клетками сосудов и выполняет в печени функцию фактора роста для фибробластов и эндотелиоцитов. YKL-40 показал специфичность 81% и чувствительность 78% в дифференциации F0- I и F2-4 у пациентов с ХГ [328, 335].

Матриксные металлопротеиназы – семейство интерстициальных протеаз, обеспечивающих деградацию коллагена. Активность металлопротеиназ контролируется тканевым ингибитором матриксных металлопротеиназ 1-го типа, одна из изоформ которого оказалась информативна при выявлении цирроза с чувствительностью и специфичностью 74–100% и 56–75% соответственно [20, 253, 254]. Несмотря на хорошую диагностическую точность металлопротеиназ и их ингибиторов в выявлении ЦП, данные маркеры недостаточно информативны на более ранних стадиях фиброза [128].

Есть исследования по оценке диагностической точности факторов роста для стратификации статий фиброза при заболеваниях печени. В работе A. Mahmoud et al. (2012) чувствительность и специфичность теста определения ***трансформирующего фактора роста β*** в крови для диагностики стадии фиброза F1 составили соответственно 100 и 94,4%, стадии фиброза F2 – 100 и 93,9%, стадии F3 – 97,7 и 100% соответственно [280].

На сегодняшний день известно несколько различных индексов и шкал на основании оценки концентрации прямых сывороточных маркеров, которые применяются для диагностики стадии ФП.

MP3 – PIIINP / MMP-1 index. Соотношение уровней N-терминального пептида проколлагена PIIIN (маркер фиброгенеза) и матриксной металлопротеиназы ММП-1 (маркер фибролиза). Показатели указанного соотношения хорошо дифференцировали стадии фиброза (F2 / F3 / F4) по шкале METAVIR [350].

ELF (Enhanced liver fibrosis – повышенный фиброз печени) - ГК, PIIINP, TIMP-1, возраст. Панель ELF продемонстрировала хорошую диагностическую точность: чувствительность и специфичность для выраженного фиброза (≥ F2) составляет 69–93% и 62–81% (AUROC 0,78-0,94) и для ЦП – 70–83% и 75–97% (AUROC 0,83-0,94) соответственно [173, 218, 230, 231, 271, 285]. Значения индекса ELF у больных с гепатитом В позволяли предсказать прогрессирование заболевания, развитие гепатоцеллюлярной карциномы и летальный исход [254].

Непрямые лабораторные маркеры фиброза

Непрямые лабораторные маркеры отражают активность воспалительного процесса и повреждения паренхимы, нарушение ее синтетической функции и, таким образом, позволяют косвенно судить о наличии и выраженности ФП [109, 321]. К непрямым сывороточным маркерам ФП относят: маркеры цитолиза (трансаминазы), параметры холестаза - гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТП) и билирубин, тесты синтетической функции печени - протромбиновый индекс, тромбоциты, альбумин, холестерин, α2-макроглобулин, аполипопротеин А2, гаптоглобин, ферритин [25, 151, 170, 171, 204].

Определение уровня аланинаминотрансферазы (АЛТ) нередко используется в качестве скрининга патологии печени, в том числе и вирусного генеза. Однако, повышенные значения этого фермента наблюдаются лишь у 35–83% HCV-позитивных пациентов [360].

Альфа-фетопротеин (АФП) является рутинным сывороточным маркёром гепатоцеллюлярной карциномы, но в то же время его уровень может увеличиваться у больных острым и хроническим гепатитом без признаков гепатоцеллюлярной карциномы, что обусловлено повышением регенераторной активности печени. АФП служит показателем реценерации на фоне некро-воспалительных процессов, фиброза и нарушенной архитектоники органа [9, 112, 175, 241, 270, 275, 299, 343]. Тесная связь АФП с лабораторными и гистологическими маркёрами некровоспаления позволяет использовать его в качестве маркёра прогрессирующего нарушения сосудистой и паренхиматозной архитектоники печени наряду с перфузионными показателями у больных хроническими гепатитами [9]. Контроль уровня АФП, как при первичном обследовании больных ЦП, так и в динамике позволяет оценивать стадию ЦП [84]. По мнению А.В. Шкуро (2004) усиление процессов фиброгенеза при ХГС сопровождается увеличением содержания в сыворотке крови концентрации АФП, преимущественно у лиц более старшего возраста с генотипом HCV-1, а назначение этиотропной терапии приводит к значимому снижению содержания АФП даже при отсутствии вирусологического ответа. При этом, исходно

повышенный уровень АФП позволяет с высокой степенью вероятности прогнозировать меньшую эффективность этиотропного лечения [112]. Существует разработанный алгоритм, основанный на оценке возраста, уровней АФП, тромбоцитов и АЛТ, который увеличивает прогностическую ценность для выявления у пациентов с ХГС рисков развития ЦП в течение 6 месяцев [196]. АФП используют, как неинвазивный маркёр фиброза и цирроза при гепатитах, включая в расчетную формулу наряду с тромбоцитами, ферментами цитолиза и протромбином [299]. Однако, мнения исследователей о связи АФП с виремией и генотипом HCV противоречивы. [179, 241].

Существует ряд запатентованных методик стратификации фиброза и ЦП на основе определения биохимических маркеров. Например, способ оценки степени ФП при ХГ, основанный на определении концентрации ферритина и насыщения трансферрина железом в сыворотке крови [70]. На основе комбинации лабораторных маркеров фиброза и инструментальных методов разрабатываются математические модели фиброза [110]. Есть последние исследования об усилении выраженности фиброза, связанные с повышенным уровнем группы метаболомов - тирозина, фенилаланина, метионина, цитрата, липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП), фосфатидилхолина, и N-ацетил-α1-гликопротеин кислоты [167].

На сегодняшний день предложено более 20 различных индексов, шкал и даже компьютерных программ на основании оценки концентрации непрямых сывороточных маркеров, которые применяются для диагностики стадии ФП [77, 78, 109, 186, 228].

Наиболее изученным при ХГС является ***индекс APRI*** (aspartate aminotransferase to platelet ratio index): индекс отношения АСТ/количество тромбоцитов. По результатам крупного мета-анализа значения индекса APRI ≥ 0,7 и <1,0 позволяли диагностировать выраженный фиброз у больных ХГС с чувствительностью 77% и специфичностью 72% [273]. У больных с гепатитом В данный индекс, демонстрирует высокую диагностическую точность в отношении стратификации выраженного фиброза и ЦП [74, 169]. У пациентов с жировым

поражением печени исследования демонстрируют умеренную значимость метода: AUROC 0,74-0,85 для фиброза ≥F3 [259, 365]. По данным И.Ю. Пироговой (2012) индекс APRI обладает достаточной чувствительностью и специфичностью при тяжелом фиброзе и ЦП (площадь под кривой ROC более 0,8), но неинформативен при легком и умеренном фиброзе [74].

Индекс AAR (AST/ALT ratio) - соотношение АСТ/АЛТ. Традиционно определение баланса АСТ/АЛТ используется, как неивазивный метод оценки тяжести ХЗП, так как утяжеление этих патологий связано с повышением значений этих ферментов. Диагностическая точность этого индекса для оценки фиброза у пациентов с ХГС является невысокой (площадь под кривой ROC составляет 0,661, 0,793 и 0,811 соответственно) [332]. По данным А.П. Щёкотовой с соавт. (2013) чувствительность теста соотношения АСТ/АЛТ для диагностики ЦП составляет 69%, специфичность – 96% при показателе эффективности для стратификации ХГ и ЦП 82% [122].

Индекс FIB-4 – АЛТ/АСТ, количество тромбоцитов, возраст. Чувствительность и специфичность метода при ХГ составляет 73–85%, 51–71% (AUROC 0,72-0,86) - для выраженного фиброза(≥ F2) и 89% и 72% (AUROC 0,76-0,92) - для ЦП. Применение индекса FIB4 позволяет избегать проведения биопсии у 63% пациентов с ХГ [285, 352].

Индекс Bonacini, включающий параметры отношение АЛТ/АСТ, МНО и количество тромбоцитов рекомендован для неинвазивной диагностики выраженного фиброза и ЦП у больных ХГ. Значение данного индекса ≥ 8 баллов позволяет верифицировать продвинутые стадии фиброза печени при ХГС с чувствительностью 46% и специфичностью 98% [332].

Индекс Forns, основанный на оценке сочетания лабораторных и демографических параметров (возраст, количество тромбоцитов, ГГТП, общий холестерин), позволяет исключать выраженный фиброз и дает возможность избежать проведения биопсии более, чем у 30% больных ХГ [332]. По данным И.Ю. Пироговой (2012) данный индекс обладает достаточной чувствительностью

и специфичностью при тяжелом фиброзе и ЦП, но неинформативен при легком и умеренном фиброзе [74].

FibroIndex - АСТ, гамма-глобулин, количество тромбоцитов, вычисляется по специальной формуле. Отметим однако, что в специальном внешнем исследовании показано, что тесты APRI, AAR, Fibroindex, Fibrotest и Forns' index все же имеют пониженную эффективность у пациентов с фиброзом при ХГС и с нормальными уровнями АЛТ. Авторы считают, что в таких случаях для диагностики ФП «биопсия все еще необходима» [331].

Фиброметр (FibroMeter) включает в себя пять показателей: альфа-2-макроглобулин, ГГТП, мочевина, протромбиновый индекс, тромбоциты. Метод подробно изучен у пациентов с хроническими вирусными гепатитами. Продемонстрирована достаточно высокая диагностическая точность индекса фиброметр в выявлении фиброза стадий F2, F3 и цирроза (F4): AUROC 0,73-0,85, 0,740,88 и 0,75-0,90 соответственно [158, 184].

Фиботест **(FibroTest)** — метод неинвазивной диагностики стадии фиброза печени и активности воспаления, разработанный французской компанией BioPredictive. Фиботест рассчитывается на основании шести непрямых маркеров: альфа2-макроглобулин, гаптоглобин, аполипопротеин А1, ГГТП, общий билирубин и АЛТ. Несколько метаанализов демонстрируют хорошую диагностическую точность фиботеста в определении выраженного фиброза (≥F2) у пациентов с различной этиологией [26, 314, 315, 333]. В настоящее время Фиботест довольно широко используется в клинической практике за рубежом. Однако, в России его применение ограничено высокой стоимостью метода – 200-250 евро.

Согласно результатам недавнего исследования чувствительности и специфичности индексов, основанных на сочетании непрямых маркеров фиброза, значения индексов APRI, FIB4, Forns, АСТ/АЛТ достоверно не коррелировали с гистологической стадией заболевания и со стадией ФП по данным эластографии у 120 пациентов с первичным билиарным циррозом. При этом, прогностическая

ценность отрицательного результата данных индексов являлась высокой, что дает возможность исключить ЦП [210].

Таким образом, применение вышеперечисленных тестов позволяет с высокой диагностической точностью выделить группу пациентов с тяжелыми стадиями фиброза (F3-F4), но данные индексы не всегда обладают достаточной информативностью для диагностики начальных и умеренных степеней фиброза (F1-F2). Поэтому в настоящее время именно у данной категории больных для определения стадии ФП применяется биопсия [171].

Описанные выше прямые и непрямые сывороточные маркеры фиброза входят в состав различных индексов. Часть из них доступна сегодня и на российском рынке. К ним относят FibroSpect (США), FibroTest (США), Fibrometer и FibroMax (Франция). Hepascore (Австралия).

FibroSpect - α2-макроглобулин, ГК, TIMP-1. FibroTest с высокой точностью позволяет исключить тяжелый фиброз (площадь под кривой ROC составляла 0,68-0,89). Чувствительность этого индекса для диагностики выраженного фиброза (F2-F4) составила 84%, для диагностики ЦП – 100% при прогностической ценности отрицательного результата 70% [178, 209]. По другим данным показатели FibroTest коррелировали с результатами гистологического исследования биоптатов печени и прогнозом пациентов с алкогольной болезнью печени [147]. Так при значениях данного индекса <0,3 (отсутствие или начальный фиброз печени) 10-летняя выживаемость больных составляла 92%, а при значениях FibroTest >0,58 (выраженный фиброз) выживаемость не превышала 62,6% [209]. По данным L. Castera et al. (2014) значения индекса FibroTest коррелировали с показателями выживаемости больных. При значениях данного индекса≤0,73 5-летняя выживаемость пациентов составляла 96,8%, при значениях>0,85 – 49,2% [169]. В исследовании M. Friedrich-Rust et al. (2010) была сопоставлена точность индекса FibroTest с данными транзиторной эластографии для диагностики стадий фиброза у пациентов с заболеваниями печени. Авторы показали, что индекс FibroTest информативен у большего количества больных, чем транзиторная эластография [218].

Hepascore - α2-макроглобулин, ГК, ГГТП, билирубин, возраст, пол. В некоторых исследованиях была показана высокая точность панели Hepascore для диагностики выраженного фиброза (площадь под кривой ROC 0,77) [147]. По данным L. Adams et al. (2005) значения данного индекса диагностируют тяжелый фиброз со специфичностью и чувствительностью соответственно 74 и 88% [131].

Есть последние исследования об усилении выраженности фиброза, связанные с повышенным уровнем группы метаболомов - тирозина, фенилаланин, метионин, цитрата, липопротеинов низкой и очень низкой плотности, фосфатидилхолин, и N-ацетил-α1-гликопротеин кислоты [167].

По данным A. Baranova et al. (2011) алгоритмы интегральной диагностики выраженности ФП включает оценку биомаркеров у пациентов с текущей HCV/HBV инфекцией – 1 раз в год, больных с ИМТ>30 и нормальными трансаминазами – 1 раз в три года, лиц без ожирения с трансаминазами на верхней границе нормы (до 20%) – 1 раз в год, при алкогольном поражении печени - 1 раз в два года. При выявлении ФП по результатам исследования лабораторных маркеров рекомендуется проведение оценки изображения печени и при необходимости – биопсии [138].

Таким образом, современные неинвазивные методы диагностики фиброза значительно уменьшили потребность в биопсии. На сегодняшний день до 70% пациентов с поражением печени избавлены от биопсии печени при исключении ФП с помощью биомаркеров. Результаты сравнения панелей Fibrotest, Fibrometer, Hepascore для дифференциации стадий фиброза (F2, F3, F4) показали чувствительность 70-81%, специфичность – 60-87% [19, 138].

Однако, многие лабораторные панели обладают ограниченной диагностической значимостью на ранних стадиях фиброза [171]. Большинство существующих панелей и формул для диагностики фиброза запатентованы, поэтому дороги, выполняются с определенными реактивами и ограниченно используются в практическом здравоохранении в России. Поэтому, дальнейшая разработка диагностических тестов и панелей, эффективных на ранних стадиях

процесса и имеющих умеренную цену, позволяющую реализовать их у широкого круга пациентов в настоящее время продолжается.

1.3. Современное представление о механизмах прогрессировании фиброза

Значение механизмов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы в прогрессировании фиброза

Вирусы, алкоголь оказывают прямое гепатотоксическое действие и провоцирует оксидативный стресс, усиливая тем самым процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), что приводит к апоптозу гепатоцитов. Необходимо отметить, что печень примерно на 80% состоит из мембран и ее потенциал определяется прежде всего их нормальным функционированием [24]. Разрушение полиненасыщенных жирных кислот ведет к образованию токсичных и химически активных метаболитов – малонового диальдегида (МДА) [198, 268, 300]. По мнению некоторых авторов, негативными последствиями ПОЛ может быть стимуляция фиброгенеза за счет воздействия на звездчатые клетки печени и прогрессирование патологического процесса [24, 301].

Ряд исследователей при ХГС и ЦП отмечают повышение концентрации МДА, как интегративного показателя интенсивности ПОЛ, зависящее от степени тяжести патологического процесса и уровня виремии, и более выраженные при ЦП независимо от этиологии [24, 80, 208, 250]. При этом, некоторыми авторами не было найдено зависимости изучаемых показателей от активности АЛТ, но выявлены прямые связи между МДА и индексом гистологической активности [24].

В организме повреждающему действию продуктов ПОЛ и активных кислородных радикалов противостоит антиоксидантная система (АОС), составляющими которой являются антиоксидантные ферменты. Оксидативный стресс возникает в случаях нарушения баланса между избыточной продукцией активных форм кислорода и антиоксидантной защитой [135, 176, 232]. В отношении активности ферментов АОС в литературе встречаются достаточно

противоречивые сведения. Очевидно, это объясняется многокомпонентностью её структуры, многообразием применяемых методических подходов к оценке этой системы, в том числе определением активности ферментов в эритроцитах, сыворотке, плазме крови или в биоптатах печени, а также гетерогенностью обследованных по степени поражения печени. Некоторые авторы считают, что активность ферментов в эритроцитах отражает процессы, происходящие в гепатоцитах. В литературе встречаются данные о повышении активности ферментов глутатиона в эритроцитах при токсических и вирусных гепатитах [43, 159, 297]. В работе S. Kaya et al. (2006) выявлено повышение активности ферментов системы глутатиона в биоптатах печени при гепатите и циррозе, коррелирующее с виремией [250]. По мнению В.В. Скворцова (2003) по мере прогрессирования процесса от ХГ к ЦП регистрируются все более высокие цифры ПОЛ и наблюдается снижение активности каталазы и супероксиддисмутазы, что свидетельствует об истощении резервов ферментной АОС, а более чем трехкратное повышение уровня ПОЛ и падение активности каталазы более, чем на 15% с высокой достоверностью указывают на наличие ЦП независимо от этиологии [93].

Таким образом, до настоящего времени нет единого мнения о роли окислительного стресса в прогрессировании ХЗП. Следовательно, мониторинг активности ПОЛ, наряду с изучением системы антиоксидантной защиты у больных заболеваниями печени представляется актуальной задачей.

Роль сывороточных показателей обмена в прогрессировании фиброза

Проблема перегрузки печени железом при её хронических заболеваниях в последние годы все чаще привлекает внимание гепатологов и морфологов. Генез выраженных нарушений метаболизма железа при ХЗП все еще не до конца ясен, а данные различных исследований весьма противоречивы. Частота идиопатического гемохроматоза в общей популяции составляет 5–6%. Даже незначительный избыток железа в печени может потенцировать действие вирусов. Наряду с наследственным гемохроматозом выделяют вторичный

гемосидероз, связанный в том числе с ХЗП, который диагностируется в 5-10 раз чаще у мужчин после 40 лет [11, 29, 49, 94, 132].

Концентрация железа в печени повышена по некоторым данным у 36% больных вирусными гепатитами [94], у 66% пациентов с гепатитами смешанной этиологии (вирус+алкоголь) [11]. При этом, у лиц с заболеваниями печени, особенно при циррозе, находят взаимосвязь между прогрессированием заболевания и избыточным содержанием железа в печени [11]. По данным Е.Ю. Ерёминой (2015) почти у 30% больных гемохроматозом развивается рак печени [29]. В исследовании I. Shimizu et al. (2001) у пациентов ХГС с устойчивым ответом на терапию интерфероном достоверно снижаются, как уровни параметров фиброгенеза, так и концентрация железа в печени [334].

При изучении метаболизма железа у больных ХГС, кроме повышения концентрации сывороточного железа, часто выявляют повышение уровня ферритина [31, 56, 70, 71, 251, 286]. Есть данные о более высоком содержание ферритина у мужчин при вирусных гепатитах, а также у пациентов с давностью заболевания более 10 лет [88]. Основное место локализации железа в ткани печени – макрофагальные клетки. Повышенное содержание ферритина, отражая перегрузку железом при вирусном поражении печени, приводит к усилению липопероксидации и фиброзирования печеночной ткани, и следовательно по мнению некоторых авторов, ферритин является важным маркёром течения и прогрессирования ХЗП [31, 56, 70, 71, 207].

Данные о связи параметров обмена железа с фиброзом также весьма противоречивы. По одним исследованиям измененные сывороточные показатели обмена железа (ферритин, железо и насыщение трансферрина железом) следует рассматривать, как дополнительные критерии ФП (F2-F3) у больных вирусными гепатитами [70, 71]. При этом, другие исследователи не находили значимой корреляции между уровнем параметров железа и степенью воспаления, а также стадией фиброза при ХГ [251].

Сведения о прогностической роли параметров железа при этиотропной терапии ХГ также весьма неоднозначны. Полагают, что эффективная терапия

пегилированным интерфероном-α и рибавирином сопровождается уменьшением выраженности перегрузки железом [31]. По мнению некоторых авторов базовый уровень ферритина является независимым предиктором устойчивого вирусологического ответа на интерферонотерапию при ХГ [56, 88]. По другим данным уровень ферритина не зависит от вирусологического ответа [286].

Таким образом, изменения метаболизма железа при ХЗП и оценка их динамики на фоне терапии требует дополнительного уточнения.

Значение цитокинов в развитии фиброза печени

Многочисленные факты указывают на наличие тесной взаимосвязи между уровнем продукции молекул цитокинов и клиническими характеристиками патологического процесса в печени [30, 50, 97, 174, 197, 269, 329]. При хронизации воспалительного процесса с участием цитокинов происходит повреждение ткани печени, активация фиброгенеза, стимуляция неоангиогенеза и механизмов рубцевания. Продолжительный синтез цитокинов может стать инициатором прогрессирования патологического процесса в печени [50, 97]. В формировании некрозов гепатоцитов и прогрессировании ЦП значительную роль играют иммунологические нарушения, обусловленные дисфункцией купферовских клеток, синтезирующих провоспалительные цитокины [127].

В процессах регуляции фиброгенеза играют роль большое количество цитокинов [133, 214]. Определение цитокинового статуса при ХЗП имеет важное значение для определения прогноза, так как уровень цитокинов отражает интенсивность регенераторных процессов в печени и прогрессирование болезни [83, 97, 200, 221, 269, 274].

В литературных источниках представлены многочисленные данные об изменении различных цитокинов при ХЗП и динамики цитокинового профиля на фоне терапии интерферонами. В то же время, содержание работ носит противоречивый характер. В одних работах показано, что нарушение структуры печени с развитием в ней некротических и фибротических изменений связано с уровнем продукции провоспалительных цитокинов – интерлейкина-6 (ИЛ-6) и фактора некроза опухоли-альфа (ФНО-α) [41, 46, 97, 185]. В исследовании Н.

Nakagawa et al. (2015) было доказано, что высокие уровни сывороточного ИЛ-6 связаны с высоким уровнем летальности при вирусном гепатите [293]. Продукция ИЛ-6 по разным данным повышена у 35–100% пациентов с ХГС [4, 5, 41, 111].

ФНО-α - многофункциональный цитокин, одной из важных функций которого является участие в регуляции апоптоза, в том числе в поврежденных вирусом клетках. Считается, что гиперпродукция этого цитокина является одним из основных механизмов активации инфекционного процесса при его переходе из скрытого состояния в фазу клинических проявлений и свидетельствует о прогрессировании заболевания [105]. При этом, одни авторы указывают на наличие достоверных взаимосвязей между значениями цитокинов и параметрами цитолиза [41, 83, 185]. Другие исследователи при вирусном поражении печени регистрировали повышенные уровни ФНО-α и ИЛ-6 независимо от наличия и выраженности клинических проявлений, продолжительности заболевания, биохимических параметров и степени воспалительных изменений ткани печени, в том числе и при цирротической стадии [4]. По данным Н.Л. Ширининой (2008) подъём сывороточных концентраций провоспалительных цитокинов наблюдался на фоне нормальных и низких значений трансаминаз [111]. Есть сведения о том, что содержание провоспалительных цитокинов у больных с низкой репликативной активностью вируса статистически значимо выше в сравнении с пациентами с высокой репликативной активностью при ХГ [97]. По мнению Н.А. Каплиной и соавт. (2011) критериями эффективности интерферонотерапии, помимо положительной динамики клинических, биохимических и морфологических параметров, являются уменьшение исходно высокой концентрации ФНО-α и ИЛ-6 к 6-12 месяцам терапии [41]. По данным Е.И. Стилиди (2014) повышение содержания ФНО-α и ИЛ-6 в сыворотке крови больных ХГС на 1-й неделе лечения более, чем на 30,6% и 21,1% от исходных ассоциировано с устойчивым вирусологическим ответом, что позволяет прогнозировать эффективность терапии [97].

Данные о роли провоспалительного интерлейкина-17 (ИЛ-17) при заболеваниях немногочисленны. Известно, что он вносит вклад в развитие

воспалительного синдрома при аутоимунной патологии. Недавние исследования уровня ИЛ-17 выявили положительную корреляцию его экспрессии с воспалением и стадией фиброза [191, 236].

Другими перспективными биохимическими маркерами патологических изменений печени могут стать факторы роста, регулирующие пролиферацию и дифференцировку различных тканей человека. Сегодня доказана взаимосвязь некоторых факторов роста, таких, как фактор роста гепатоцитов, фактор роста фибробластов, инсулиноподобный фактор роста 1 со степенью фиброза [71, 256].

При исследовании гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) у пациентов с ЦП различной этиологии отмечено, что наиболее высокие концентрации данного цитокина наблюдались при повреждении печени алкоголем, вирусами гепатитов, в результате холестаза и при криптогенном ЦП. По мнению В. В. Базарного с соавт. (2013) концентрация этого цитокина у больных с ЦП выше значения 7 пг/мл, вероятно, может служить предиктором неблагоприятного развития данного заболевания с диагностическими чувствительностью и специфичностью 95,7% и 96,9% соответственно [6].

Васкулоэндотелиальный фактор роста стимулирует продукцию коллагена звёздчатыми клетками печени при воспалении и участвует в патогенезе и прогрессировании ХЗП за счет неоангиогенеза [113, 182, 362]. В модели фиброза на животных ВЭФР способствовал фиброгенезу [364]. Предложено использовать определение ВЭФР с целью стратификации ХГ и ЦП с диагностическими чувствительностью и специфичностью 90% и 80% соответственно [120, 121]. В литературе есть данные о повышении концентрации ВЭФР при гепатоцеллюлярной карциноме и метастатическом поражении печени [121].

Анализ литературы показал, что цитокиновый статус отражает иммуно-воспалительный процесс в печени. Но отсутствие единого мнения о направленности и выраженности изменений цитокинов диктует необходимость изучения их взаимосвязи с развитием ФП с целью возможности клинического приложения определений сывороточных концентраций цитокинов в качестве неинвазивного метода определения прогрессирования ХЗП и оценки

эффективности терапии, позволящих практическому врачу обоснованно строить дальнейшую лечебную тактику у данной группы больных.

Роль метаболических нарушений в прогрессировании поражений печени

Проблема сочетания вирусных и метаболических повреждений печени лишь в последние годы начинает осознаваться, как имеющая существенное клиническое и терапевтическое значение. Из-за пандемии ожирения, распространенность жирового поражения печени в общей популяции растёт. По данным российских исследований в общей популяции встречаемость стеатоза печени регистрируется до 30% случаев [3, 106]. Стеатоз печени по разным данным выявляется в 30–70% биоптатов печени, а признаки стеатогепатита находят в 6–18% биоптатах при ХГС [3, 367].

Во многих исследованиях была показана существенная связь между метаболическим поражение печени и фиброзом [172, 201, 242, 304, 305, 310, 317, 322, 324, 357, 368]. Прогрессирование ФП регистрируется по данным некоторых исследований у 43% больных с сопутствующим стеатогепатитом и у 37% лиц с изолированным стеатозом печени [287, 357]. Большинство пациентов с вирусным гепатитом имеют слабую степень накопления жира, но даже незначительный стеатоз, связанный с повышенным индексом массы тела и высоким уровнем триглицеридов может способствовать прогрессированию фиброза [201, 310]. Признаки гиперлипидемии, чаще в виде гипертриглицеридемии находят у 20–80% больных ХГС [14, 266]. Помимо гипертриглицеридемии и изменения содержания свободных жирных кислот во все фазы экспериментального гепатита С нарушение липидного обмена характеризуется снижением содержания холестерина и качественным изменением липопротеинового спектра [92].

У значительной части больных ХГС при отсутствии ожирения и сахарного диабета выявляется жировое поражение гепатоцитов, что позволяет предполагать стеатогенную роль вируса [288]. Ряд авторов находят взаимосвязь HCV-3 со стеатозом, дислипидемией (гиперхолестеринемией) и сывороточной концентрацией аполипопротеина-Е [143, 162, 203], а также корреляцию стеатоза с уровнем вирусемии и стадией ФП при инфицировании HCV-3 [289, 357].

При этом, другие исследователи у пациентов с HCV-1 находили ассоциацию аполипопротеина-В с сывороточной концентрацией триглицеридов и HOMA-IR [161]. В исследовании H.M. Patton et al. (2004) степень стеатоза коррелировала с выраженностью фиброза у больных, инфицированных HCV-1, а устойчивый вирусологический ответ был достоверно ниже у инфицированных HCV-1 с исходным стеатозом, чем без него. При этом, различия между группами пролеченных пациентов с HCV-3 и стеатозом и без него оказались недостоверными [304]. Показано, что у пациентов с другими генотипами при устойчивом вирусологическом ответе наблюдается уменьшение стеатоза и дислипидемии в 46% случаев, а у 29% стеатоз полностью исчезает [238].

Таким образом, остается неясным, то ли накопление жиров в печени приводит к воспалению, то ли воспаление, обусловленное этиологическим фактором, вызывает нарушение функции гепатоцитов, приводящее к метаболическим изменениям.

1.4. Обзор значимых в прогрессировании фиброза полиморфизмов генов

Существующие подходы к прогнозированию течения ХЗП основываются преимущественно на анализе клинической картины заболевания, данных инструментальных и лабораторных исследований, а также результатах биопсии [36]. Такие хорошо известные факторы риска прогрессирования ФП, как генотип вируса, поздний возраст инфицирования, мужской пол, злоупотребление алкоголем, иммуносупрессия, сочетанное инфицирование другими вирусами, наличие сахарного диабета и стеатоза печени позволяют выявить группу больных повышенного риска развития цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы [142].

Вместе с тем у пациентов, не имеющих этих факторов риска или имеющих только некоторые из них, прогнозирование течения заболевания затруднено. Поэтому, поиск новых надежных методов прогнозирования течения фиброза и исходов заболевания приобретает особую актуальность.

В последние годы отмечается повышение интереса к исследованию генетических детерминант развития и прогрессирования заболеваний, а также ответа на лекарственную терапию. К числу наиболее широко изучаемых генетических факторов относятся ОНП, которые в ряде случаев сопряжены с увеличением или уменьшением концентрации и/или активности продукта гена. Полиморфизмы могут приводить к нарушениям экспрессии и регуляции генов и появлению белков с изменёнными функциональными свойствами. Считается, что наличие однонуклеотидных замен является одним из факторов, определяющих индивидуальные особенности течения болезней, а их выявление может быть использовано для определения прогноза заболевания [295]. По мнению некоторых исследователей скрининг ОНП позволяет определить наследственную предрасположенность к различным мультифакторным заболеваниям, а также прогнозировать индивидуальную чувствительность к фармакологическим препаратам [224, 295].

В последние годы за рубежом для поиска генетических маркеров заболеваний стал активно использоваться метод геномного сканирования. В ходе таких исследований анализируется большое число полиморфизмов, находящихся в разных участках генома и имеющих достаточно высокую частоту минорного аллеля. Одной из таких работ является исследование, проведенное в 2006 году в нескольких крупных медицинских центрах США, в ходе которого был осуществлен поиск полиморфизмов, способных предсказать риск развития ЦП у пациентов с ХГС. В ходе этого исследования была проанализирована выборка из 1468 пациентов с циррозом печени, обусловленном HCV инфекцией. Суммарно было проанализировано 24823 нуклеотидных полиморфизма. В конечную панель предикторов риска развития ЦП на основе анализа вошло 7 полиморфизмов кандидатных генов: *AZIN1* (Chr8) с генотипом риска *GG, TLR4* (Chr9) CC, *TRPM5* (Chr11) CT,CC, *AP3S2* (Chr15) AG,AA, *NVL* (Chr1) GG, *STXBP5L* (Chr3) AG,AA, *AQP2* (Chr12) GG. Данная шкала была получена методом полногеномного скрининга аллельных ассоциаций [240]. По данным К.Р. Дудиной (2011), проводившей анализ генетического риска развития цирроза у пациентов с ЦП

смешанной вирусной и алкогольной этиологии полиморфизмы 7 генов (по Huang, 2007) показали аналогичную значимость, как у больных циррозом вирусного генеза, так и у пациентов с иной этиологией [28].

Другим подходом можно считать поиск генов-кандидатов, которые кодируют молекулы, вовлеченные в известные звенья фиброгенеза в печени, такие как интерлейкины, HAD (P) H-оксидаза, гемоферритин [1, 100, 101]. Между тем, результаты исследований, касающихся изучения ассоциации полиморфизма генов-кандидатов с вариантами течения ФП до настоящего времени достаточно противоречивы, что может быть связано с преобладанием работ, часто изучавших изолированное влияние каждого из полиморфных маркеров [1].

Учитывая участие иммунных реакций в патогенезе заболеваний печени и тот факт, что цитокины являются медиаторами воспаления, изучение генов, контролирующих активность цитокинов, является важной задачей при исследовании механизмов развития и течения ФП. Исследованию влияния полиморфизма генов цитокинов на течение ХЗП в последние годы посвящено немало исследований, но результаты остаются спорными [1, 44, 53, 61, 71, 91, 99, 100, 130, 140, 164, 166, 202, 223, 307, 308, 316]. В исследовании С.М. Абдуллаева (2008) определены «профибротические» (1Ь-1Ь -511 СТ и -511 ТТ; 1Ь-6 -174 ОС и -174 СС; ТОР-Ы +915 вС и +915 СС; НРБ 63ГО и 63ББ) и «протективные» (1ЫЬ -511 СС и 1Ь-6 -174 вв) генотипы, ассоциированные соответственно с быстрым и медленным темпами прогрессирования ФП и продемонстрирована ассоциация генетического полиморфизма гена 1Ь-10 -1082 О/А с эффективностью этиотропной терапии [1]. В исследовании А.В. Колотвина (2014) установлены прогностически значимые закономерности сочетания субтипа вируса и аллельных вариантов генов интерлейкина-1В, ФНО-α, гемохроматоза на эффективность терапии и скорость развития ФП у больных ХГ [44, 61].

Изучение влияния полиморфных вариантов генов молекул ПОЛ и ферментов АОС имеет важное клиническое и прогностическое значение. Исследования, проведенные на моделях печеночного фиброза у трансгенных мышей, показали, что гены, опосредующие продукцию активных форм

кислорода, такие, как NADPH-оксидаза, регулируют как воспалительную активность, так и развитие фиброза [144].

По данным О.В. Таратиной и соавт (2014) носительство мутантных аллелей гена ангиотензиногена по любому из локусов (G-6A или M235T) является фактором, прогнозирующим быстрое прогрессирование фиброза [100]. В работе Ч. С. Павлова (2009) в эксперименте были созданы генетические конструкции на основе оптимизированных генов урокиназы, фактора роста гепатоцитов, металлопротеиназы-1 и -8, которые могут быть использованы в разработке генно-инженерной терапии ФП [71]. По данным С.Н. Маммаева (2014) раннее выявление мутантных Glu 70, Met 91 форм HCV-1 позволит прогнозировать риск развития гепатоцеллюлярной карциномы у больных ХГС [55].

В 2009 году вышла первая публикация (Ge D. et al., Nature) о значении полиморфизма ИЛ-28В в достижении устойчивого ответа на фоне лечения Пег-ИФН и рибавирином больных ХГС [224]. Среди больных ХГС с HCV-1 европеоидной расы, леченных ПЭГ-ИФН и рибавирином и имеющих генотипы СС, СТ и ТТ гена ИЛ-28В (rs12979860), устойчивый вирусологический ответ достигается в 69, 33 и 27% соответственно [345]. По данным В.Т. Ивашкина и соавт. (2013) генотип СС приблизительно в 2 раза чаще встречается у пациентов со спонтанным клиренсом HCV при остром гепатите С в сравнении с теми, у кого инфекция приобрела хроническое течение [36]. В работе А.М. Рюмина и соавт. (2015) показано, что среди больных ХГ с HCV-1 в Нижегородской области лишь 15,7% имеют неблагоприятный вариант ТТ данного маркера, в то время как 40% являются нормальными гомозиготами и имеют высокие шансы на эффективную этиотропную терапию, что подтверждает высокую вероятность спонтанного клиренса вируса у данных больных. Автор также отмечает, что генотип rs12979860 является одним из факторов, определяющих уровень виремии и частоту гиперферментемий [87]. В исследовании С.Н. Кузина с соавт. (2015) генотип ТТ гена ИЛ-28В (rs12979860) у пациентов с ХГС в Московской области также обнаруживается лишьу 14% лиц, тогда, как гетерозигота СТ встречается в 60% случаев [48]. По данным О.О. Знойко с соавт. (2011) имеются достоверные

различия в частоте встречаемости генотипа CC (rs12979860) у пациентов с ХГС и доноров в Московской области, которая составляет 36,9% и 56% соответственно [32]. Подобные закономерности найдены и другими исследователями [347]. По мнению этих авторов, различия в частоте встречаемости генотипа CC (rs12979860) в этнически однородной популяции больных ХГС и здоровых лиц возможно возникают в связи с тем, что у пациентов с данным генотипом чаще происходит спонтанная элиминация вируса и реже – хронизация вирусной инфекции. По некоторым данным, полиморфизм ИЛ-28В связан с распространенностью стеатоза печени у европейцев с генотипом HCV-1 [181].

В исследованиях A. Rauch et al. (2010) минорная аллель G полиморфизма rs8099917 гена ИЛ-28В ассоциировалась с переходом острого гепатита С в хронический, более быстрым развитием фиброза и неэффективностью этиотропной терапии [318]. По многочисленным литературным данным эти две точечные нуклеотидные замены гена ИЛ-28В служат маркерами спонтанной элиминации вируса и эффективности лечения [153, 213, 214, 235, 308, 349].

Следовательно, изучение полиморфизмов генов патогенетически значимых молекул у пациентов с заболеваниями печени позволит выделить «профибротические» и «протективные» аллели и генотипы, связанные с разными темпами прогрессирования фиброза, глубже понять патогенетические механизмы его развития и оказать помощь в выборе оптимальной схемы терапии.

1.5. Современные принципы и антифибротический эффект терапии интерферонами

Вопросы антифибротической терапии, как самостоятельного подхода давно обсуждаются в клинической практике. Еще в 2003 г. R. Safadi и S.L. Friedman разработали принципы идеальной антифибротической терапии, которая должна включать воздействие на все патогенетические звенья фиброгенеза. К основным направлениям лечения были отнесены: устранение этиологического фактора фиброза - лечение основного заболевания или прерывание патогенетической цепи в случаях неустановленной этиологии ХЗП [90, 215, 260, 282], устранение

воспалительных изменений в печени, ингибирование активации и и эффектов звездчатых клеток, повышение репарации тканей и стимуляция клеточного апоптоза. Однако, направления в лечении ФП являются в основном перспективными и широко не применяются в клинической практике [58]. Поэтому, чрезвычайно актуальным остается поиск новых подходов к коррекции данного состояния. До настоящего времени каких-либо четких стандартов лечения ФП не разработано, хотя существует ряд экспериментальных моделей исследования [67, 69, 144].

Все лекарственные средства терапии фиброза теоретически можно разделить на две большие группы – это препараты, действующие на конкретные механизмы фиброгенеза, и препараты неспецифического действия [144]. К препаратам, действующим на конкретные механизмы фиброгенеза, относят: интерфероны, синтетические аналоги нуклеозидов, препараты урсодезоксихолиевой кислоты [126, 258, 276], препараты, снижающие концентрацию ФНО-α (пентоксифиллин), препараты, подавляющие избыточную активацию макрофагов (ингибиторы рецепторов ангиотензина) [276, 335], антагонисты эндотелина (бозентан). К препаратам неспецифического действия относят: мембраностабилизаторы и антиоксиданты и флавоноиды [57].

Для эффективного воздействия на многокомпонентный механизм развития фиброзных изменений печени целесообразно применение препаратов, воздействующих на большинство значимых этапов фиброгенеза. Именно поэтому, в основных требованиях к идеальному гепатопротектору (согласно R. Preisig) одним из пунктов является адекватное подавление фиброгенеза.

На сегодняшний день в качестве основного направления лечения заболеваний печени применяется устранение этиологического фактора фиброза. Устранение причинного агента является эффективным методом воздействия на ФП и наиболее оправдано при минимальных гистологических изменениях, когда существуют благоприятные условия для предотвращения возникновения фиброзных изменений [37]. Успешная ликвидация HCV часто ассоциируется с выраженной регрессией ФП. Во многих исследованиях приводятся данные по

антифибротическому действию интерферонов преимущественно пролонгированного действия в 70-87,9%. Показано, что эластографические и морфологические показатели улучшаются в ходе этиотропной терапии ХГ, особенно при быстром вирусологическом ответе [2, 27, 75, 141, 165, 192, 193, 229, 237, 283]. Если терапия оказалась успешна и репликативная активность вируса стойко подавлена, прекращается дальнейшее прогрессирование фиброза, сохраняется функциональная активность печени и заметно сокращается риск развития осложнений [165, 192, 193, 237, 283]. По данным некоторых автором у пациентов, не достигших устойчивого вирусологического ответа, также наблюдается снижение степени ФП [27, 37].

Последнее десятилетие в мировой практике стандарт лечения ХГС представлен двойной схемой инетерферонотерапии: комбинацией Пег-ИФН-α и рибавирина [36, 52, 211]. Результаты клинической Российской практики по анализу эффективности препарата Пег-ИФН-α-2b (ПегИнтрона) показывают частоту достижения быстрого вирусологического ответа у 65% пациентов с HCV-1 и у 100% у больных с HCV-2 и HCV-3. Частота достижения непосредственного и устойчивого вирусологического ответа у пациентов с HCV-1 регистрируется в 82 и 57% случаев соответственно, а у лиц с с HCV-2 и 3 – в 82 и 71,4% случаев [40, 54]. Стабильный положительный терапевтический результат при применении стандартных короткоживущих интерферонов-альфа имеет место по разным данным у 84–100% пациентов с HCV-2,3, у больных с HCV-1 регистрируется в 61-87,2% [13, 35, 42]. В настоящее время в клинических исследованиях изучается эффективность и безопасность целого ряда новых противовирусных средств с различными точками приложения противовирусного действия в репликативном комплексе HCV - терапия ингибиторами протеазы, как в сочетании с Пег-ИФН-α, так и в безинтерфероновых схемах [8, 16, 139, 193, 205, 226, 245, 246, 247].

Несмотря на то, что этиотропная терапия представляет собой главную терапевтическую стратегию при ХЗП в настоящее время, она не решила всех вопросов регрессии ФП, и поэтому оправдан поиск новых направлений терапии. Не менее актуальным является оценка влияния препаратов интерферона

отечественного производства, используемых в современной клинической практике на обратное развитие фиброза.

РЕЗЮМЕ

Фиброз печени — ключевое звено в прогрессировании патологического процесса в печеночной ткани. За последние десятилетия вопросам оценки ФП посвящена масса как клинических, так и экспериментальных исследований. Однако, остаются нерешенными вопросы прогрессирования темпов фиброза, как прогностического маркера фатальных осложнений и методы коррекции подобных нарушений. Во многом результаты проведенных исследований остаются довольно противоречивыми, что значимо затрудняет работу клиницистов. Традиционный взгляд на выраженный фиброз и ЦП, как на обязательный и необратимый этап фиброза, в последние годы, вызывает сомнение. В настоящее время возрос интерес к неинвазивным методам определения ФП.

Согласно данным зарубежных и отечественных ученых, однонуклеотидные замены в локусах генов приводят к изменениям в структуре белка и могут оказывать влияние на эффективность терапии и темпы фиброзирования в печени. Зная генетический профиль пациентов по этим полиморфным локусам, можно будет прогнозировать темпы прогрессирования фиброза, разработать наиболее эффективную индивидуальную стратегию лечения и предположить его исход еще до начала терапии.

В этой связи, комплексное изучение механизмов фиброгенеза при ХЗП, разработка малоинвазивных, эффективных и общедоступных методов неинвазивной лабораторной диагностики его выраженности, прогнозирование темпа прогрессирования фиброза, в том числе определение «профиброгенных» и «протективных» аллелей генов-кандидатов, а также оценка влияния этиотропной терапии на обратное развитие фиброза представляется нам крайне актуальной задачей.

ГЛАВА 2. ОБЪЕМ НАБЛЮДЕНИЙ, ДИЗАЙН, МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Клиническая характеристика больных

Основную группу наблюдения составили пациенты с ХЗП вирусной и алкогольной этиологии, находившиеся на стационарном лечении в Пермской краевой клинической инфекционной больнице (инфекционное отделение № 2), в клинической медико-санитарной части № 1 г. Перми (гастроэнтерологическое отделение) и в ФГБУ «3 Центральный военный клинический госпиталь им. А.А. Вишневского» Минобороны РФ в г. Красногорске Московской обл. (центр гастроэнтерологии и гепатологии). До начала любых процедур и сбора информации от всех обследованных лиц было получено письменное информированное согласие на участие в исследовании, на анализ их демографических и медико-биологических данных. Исследование проводилось с соблюдением требований приказа № 163 (ОСТ 91500.14.0001-2002) Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также Хельсинской декларации всемирной медицинской ассоциации (Этические принципы проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования, 1993).

Критерии включения:

- мужчины и женщины старше 18 лет;
- соответствие диагностическим критериям, позволяющее включить больного в одну из двух изучаемых групп (хронический вирусный гепатит С, алкогольный цирроз печени);
- письменное информированное согласие пациента на участие в исследовании.

Критерии исключения:

- хронические сопутствующие заболевания в стадии обострения или декомпенсации;
- аутоиммунные заболевания;
- злокачественные новообразования;
- другая хроническая патология печени (аутоиммунный гепатит, жировая

болезнь печени, первичный склерозирующий холангит, желчно-каменная болезнь, первичный билиарный цирроз, болезнь Вильсона, гемохроматоз, очаговые образования в печени, гепатоцеллюлярная карцинома);

- наличие психических заболеваний в анамнезе;
- инфекционные заболевания;
- беременность, период лактации;
- фиброзирующий процесс в других органах (в том числе пневмофиброз, постинфарктный кардиосклероз и др);
- хроническая сердечная недостаточность II-IV функционального класса;
- сахарный диабет;
- метаболический синдром, ожирение.

В исследовании приняли участие 170 человек. Первую группу составили 150 пациентов с ХГС, среди которых было 74 (49%) мужчин и 76 (51%) женщин в возрасте от 20 до 61 года (средний возраст 38,89±11,31 лет) (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика групп исследуемых больных

Характеристика	**ХГ (n=150)**	**АЦП (n=20)**
Возраст, лет (M±σ)	38,89±11,31	49,5±10,8
min-max, лет	18 - 65	34 - 66
Мужчины, n (%)	74 (49%)	14 (70%)
Женщины, n (%)	76 (51%)	6 (30%)
Длительность заболевания, лет (M±σ)	5,96+3,49	11,9±6,2

Диагноз вирусного гепатита С был поставлен на основании выявления в сыворотке крови иммуноглобулинов классов G и M к HCV методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов реагентов «Бест анти-ВГС (комплекты 2 и 4)» и «РекомбиБест анти-ВГС-IgM» (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск) на анализаторе Stat Fax 2100 (Awareness Technology, США). Кроме того, в образцах плазмы крови больных методом методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с этапом обратной транскрипции (ОТ-ПЦР) была

обнаружена РНК HCV, определен генотип и уровень виремии. Выделение РНК HCV из плазмы крови пациентов проводили с помощью набора «РеалБест ДельтаМаг ВГВ/ВГС/ВИЧ (комплект 2)», а последующую ОТ-ПЦР в режиме реального времени − с использованием наборов «РеалБест ВГС ПЦР (комплект 2)», «РеалБест ВГС-генотип» и амплификатора «CFX-96» («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США).

Длительность заболевания колебалась от 2 до 18 лет и в среднем составила 5,96+3,49 лет. По данным эпиданамнеза у 83% пациентов выявлялись следующие возможные факторы и пути передачи: оперативные вмешательства (26%), лечение и протезирование зубов (20%), роды и медицинские аборты (13%), татуировки (10%), половой путь (6%), внутривенное употребление наркотиков (6%), травмы (6%), переливание крови (4%). В 17% случаев возможный источник инфицирования HCV не был установлен.

Рис. 2. Клиническая характеристика пациентов с ХГ.

При опросе у 47% больных ХГ были выявлены признаки астенического синдрома, в 19% жалобы диспепсического характера, 12% больных отмечали периодические боли в животе (см. рис. 2). При объективном осмотре выявлялись следующие симптомы: увеличение ординат Курлова (80%), желтушность кожных

покровов и склер (10%), спленомегалия (7%), признаки геморрагического синдрома (7%).

Во вторую группу с алкогольным циррозом печени (АЦП) было включено 20 человек: 14 мужчин (70%) и 6 женщин (30%) средним возрастом 49,5±10,8 лет (от 34 до 66 лет) и длительностью заболевания 11,9±6,2 лет (см. табл. 1). Пациенты с АЦП находились в фазе субкомпенсации (В класс по Чайлд-Пью) [12]. Алкогольный генез ЦП подтверждался на основании данных анамнеза (признание пациентом регулярного употребления алкогольных напитков), результатов тестирования по опроснику GAGE, косвенным объективным и лабораторным признакам хронической алкогольной интоксикации [62, 348]. При опросе уточнялся объем, крепость и частота употребления алкогольного напитка. На основании этого оценивалась средняя ежедневная доза потребляемого этанола. В пользу наличия у пациента хронической алкогольной интоксикации свидетельствовали данные анамнеза, полученные от больного и/или его родственников о систематическом приеме алкоголя в клинически значимых дозах: >20 г этилового спирта в сутки для женщин и >40 г этилового спирта в сутки для мужчин, по определению ВОЗ [62, 348].

При анализе клинического статуса у 100% больных АЦП выявлены признаки астенического синдрома. Все пациенты предъявляли большое число жалоб, в том числе на выраженную слабость, утомляемость при небольших нагрузках, раздражительность. Диспепсический синдром также был характерен для всех пациентов с АЦП, который характеризовался жалобами на плохой аппетит, вздутие живота, неустойчивый стул, тошноту, периодическую рвоту. В 60% случаев отмечалась тяжесть в правом подреберье, артралгии, субфебрилитет, носовые геморрагии, отеки на ногах. Больше половины пациентов с АЦП отмечали снижение веса, зуд кожных покровов. У большинства больных так же отмечена желтуха различной интенсивности (рис. 3).

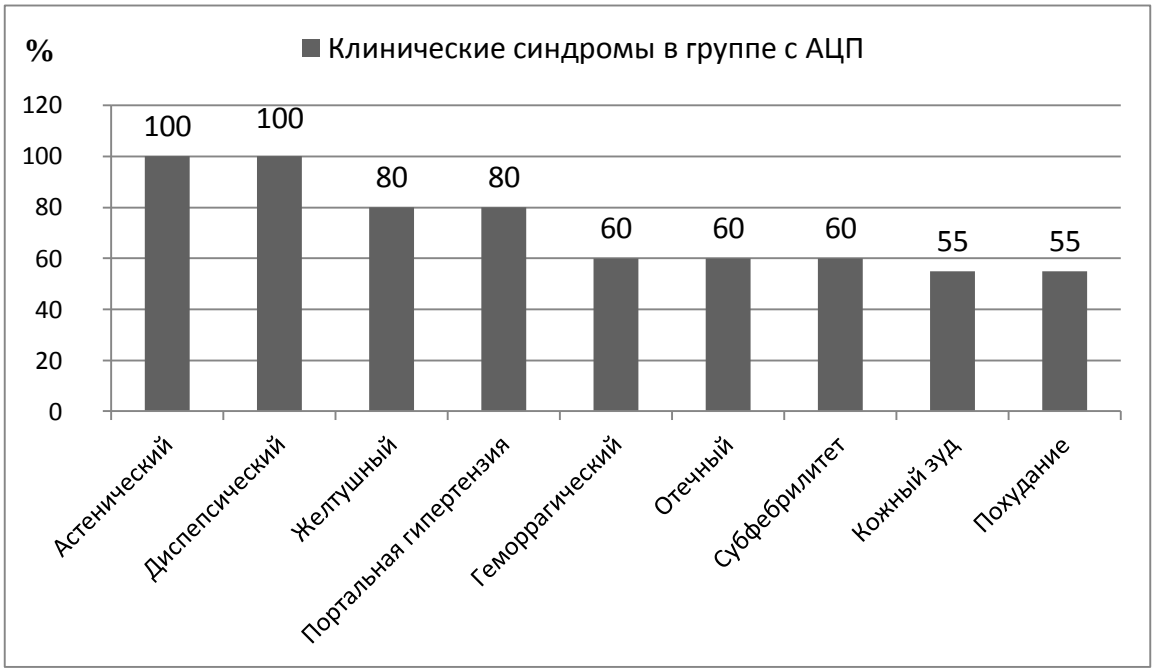

Рис. 3. Клиническая характеристика больных АЦП.

При объективном осмотре у 80% больных данной группы было зарегистрировано увеличение и уплотнение печени разной степени выраженности, в 60% случаев выявлено увеличение селезенки. У большинства пациентов отмечены печеночные «знаки» в виде телеангиэктазий. Клинические проявления портальной гипертензии в виде асцита, расширения венозных коллатералей на передней брюшной стенке выявлены у 80% обследованных. При проведении УЗИ у больных выявлены также признаки портальной гипертензии в виде расширения сосудов портальной системы, спленомегалии, признаки асцита, диффузно-неравномерное повышение эхогенности печени.

При заполнении опросника GAGE 65% пациентов с АБП дали два положительных ответа, 25% - три положительных ответа и 10% утвердительно ответили на все четыре вопроса.

Контрольную группу составили 100 практически здоровых лиц, у которых при полном клиническом и лабораторном обследовании не было обнаружено патологии печени, средний возраст - 37,29±10,14 лет (от 18 до 55 лет), из них 58 женщин и 42 мужчины. Схема дизайна исследования представлена на рисунке 4.

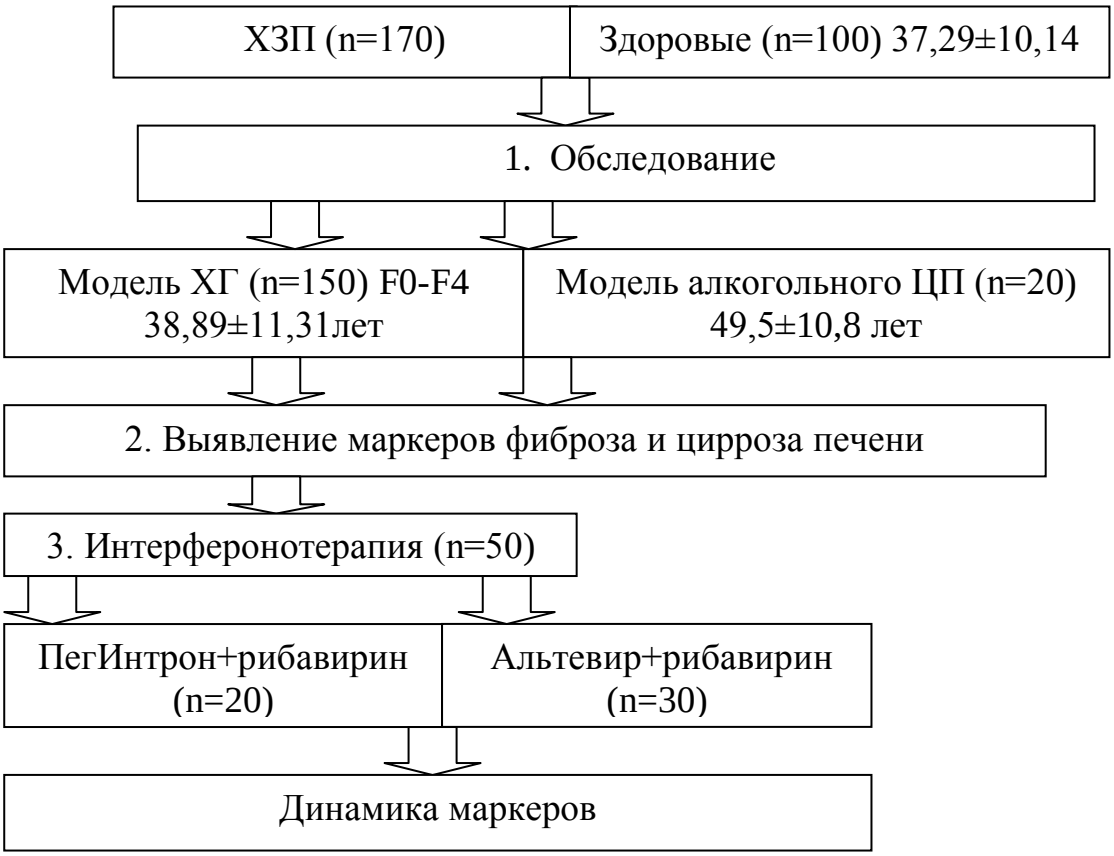

Рис. 4. Дизайн исследования.

В общей сложности за время работы было выполнено более 10000 лабораторных тестов и около 250 инструментальных исследований.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Общеклиническое и лабораторное обследование

С целью подтверждения диагноза и выявления критериев исключения все участники исследования проходили подробное обследование. Пациентам было проведено общеклиническое обследование, включавшее сбор жалоб, анамнеза, физикальное обследование. При сборе анамнеза особое внимание уделялось детализации жалоб со стороны пищеварительной системы и уточнению возможных причинных факторов вирусного гепатита, таких, как оперативные вмешательства, травмы и гемотрансфузии в прошлом, парентеральное употребление наркотиков, профессиональный контакт с биологическими средами. Подробно изучалась сопутствующая патология каждого пациента. При

объективном обследовании оценивались все системы с акцентом на органах гепатобилиарной системы. Измерялся рост и вес пациента.

Клинический диагноз устанавливался в соответствии рекомендациями европейской и российской ассоциации по изучению печени [36, 86, 192].

Опросник GAGE используется для выявления хронической алкогольной интоксикации [62] и содержит 4 вопроса:

1. Возникало ли у вас ощущение, что вам следует сократить употребление спиртных напитков?

2. Вызывало ли у вас раздражение, если кто-то из окружающих (друзья, родственники) говорили вам о необходимости сократить употребление спиртных напитков?

3. Испытывали ли вы чувство вины, связанное с употреблением спиртных напитков?

4. Возникало ли у вас желание принять спиртное, как только вы просыпались после употребления алкогольных напитков?

На каждый из вопросов возможны два варианта ответа: «да» или «нет». Два и более утвердительных ответа расценивались как признак злоупотребления алкоголем.

Из объективных симптомов хронической алкогольной интоксикации наиболее часто выявлялись следующие: инъекция сосудов склер, двусторонний паротит, симптом «банкноты» (неопрятный внешний вид), запах алкоголя изо рта [348].

Пациентам проводилось лабораторное обследование, включавшее стандартные общеклинические тесты, биохимические показатели (включая АЛТ, АСТ, ГГТП, щелочную фосфатазу (ЩФ), фракции билирубина, липидный спектр, общий белок и альбумин, тимоловую пробу и глюкозу) и определение маркеров вирусных гепатитов B, C и D методом ИФА.

Кровь для исследования брали из периферической вены натощак в период с 8.00 до 10.00 часов. При взятии венозной крови учитывался ряд факторов, способных оказать влияние на результаты исследования:

– взятие венозной крови осуществлялось после отдыха обследуемого (15 минут);

– пациент во время забора крови находился в положении сидя;

– прием алкоголя (за 2 дня), пищи (за 12 часов) и курение (за 2 часа) до исследования исключались.

Забор венозной крови производился из локтевой вены при помощи одноразовых шприцев в вакуумные системы. Образцы крови доставлялись в лабораторию в течение не более 60 минут. Венозная кровь отстаивалась при комнатной температуре (+15° С...+20° С) до образования сгустка 30 минут, после чего образцы крови центрифугировались.

Из инструментальных методов обследования пациентам была выполнена рентгенография органов грудной клетки (либо флюорография), электрокардиограмма и ультразвуковое исследование органов и сосудов брюшной полости.

После комплексного обследования каждый потенциальный участник исследования проверялся на соответствие критериям исключения. Кроме того, в исследование не включались пациенты с более, чем одним этиологическим фактором гепатита. В частности, из исследования были исключены пять пациентов с вирусным гепатитом С и сопутствующей алкогольной болезнью печени, а также три пациента со смешанными (микст-гепатитами).

Наряду с общеклиническими исследованиями для достижения поставленных задач мы применяли *специально разработанный диагностический лабораторный комплекс*, включающий в себя оценку следующих показателей в крови:

1. прямой маркера фиброза печени – ГК;
2. маркер регенерации гепатоцитов – концентрация АФП;
3. активность ПОЛ по уровню МДА;
4. активность антиоксидантных ферментов каталазы и глутатион-пероксидазы (ГЛП);
5. параметры обмена железа – сывороточное железо, ферритин, ОЖСС;

6. факторы роста ВЭФР и Г-КСФ;
7. провоспалительные цитокины ФНО-α, ИЛ-6 и ИЛ-17;
8. метаболические тесты - липидный спектр, концентрация глюкозы, С-пептида, лептина, инсулина и оценка резистентности к инсулину (индекс HOMA-IR);
9. однонуклеотидные полиморфизмы генов гиалуроновой кислоты *HAS1* (G/A), каталазы *CAT* (G262A), глутатион-пероксидазы *GPX4* (C718T), васкулоэндотелиального фактора роста *VEGFA* (G-634C), интерлейкина-28B *IL28B* (C/T) и интерлейкина-17 *IL17F* (C11139G) и аполипопротеина-B *ApoB* (R3500Q) в когортах больных ХГС и здоровых лиц.

Концентрация ГК в сыворотке крови определялась методом ИФА на анализаторе Stat Fax 2100 (Awareness Technology, США) с использованием реактивов производителя «BCM Diagnostics» (США). Диапазон референсных значений ГК, рекомендованных производителем реагента - 0–75 нг/мл.

Исследование уровня АФП в сыворотке крови проводили с помощью набора «AFP» (Siemens, Германия) иммунохемилюминисцентным анализом на анализаторе «Immulait-1000» (Германия).

Исследование уровня МДА. Интенсивность процессов ПОЛ может быть исследована при определении количества образующегося при физиологических и патологических процессах вторичного продукта пероксидации липидов – МДА. Малоновый диальдегид – это эндогенный альдегид, образующийся в результате метаболизма арахидоновой и других полиненасыщенных жирных кислот, является одним из конечных продуктов окисления [7, 18, 96]. Концентрацию МДА в сыворотке крови определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой фотометрически методом А. Кона и В. Ливерсейджа в модификации Ю.В. Владимирова и А.В. Арчакова (1972) при длине волны 540 нм. Исследование проводилось с использованием фотоэлектроколориметра КФК-3. В основе метода лежит реакция между МДА и двумя молекулами тиобарбитуровой кислоты, которая при высокой температуре и кислом значении pH протекает с образованием окрашенного триметинового комплекса, содержащего одну

молекулу МДА и две молекулы тиобарбитуровой кислоты. Максимум поглощения комплекса приходится на 532.

Реактивы: 1. Раствор гемолитика: 0,15 М калия хлорид в 1мМ ЭДТА, pH-7,4;

2. 30% трихлоруксусная кислота;

3. 0,75% тиобарбитуровая кислота;

4. 0,85% раствор натрия хлорида.

Ход определения: в опытную центрифужную пробирку внести 0,05 мл сыворотки крови, в контрольную пробирку - 0,05 мл дистиллированной воды. Затем добавить 1,9 мл приготовленного раствора гемолитика и тщательно перемешать, после чего вности 2 мл 30% раствора трихлоруксусной кислоты и 2 мл 0,75% раствора тиобарбитуровой кислоты и вновь перемешать. Пробирку поместить в кипящую водяную баню на 15 минут. После чего охладить до комнатной температуры, затем центрифугировать в течение 10 минут при 3000 об/мин и колориметрировать в кювете с рабочей длиной волны 540 нм против контроля.

Расчет МДА проводят по формуле, учитывая коэффициент молярной экстинкции:

$$C = \frac{A \times V}{1{,}56 \times 105 \times М\text{-}1 \times см - 1}$$

Где, С – концентрация МДА в мкмоль/л,

А – оптическая плотность опытной пробы (экстинкция опытной пробы),

V – объем опытной пробы

1,56 × 105 × М-1 × см - 1 – коэффициент молярной экстинкции триметинового комплекса.

Определение активности каталазы в сыворотке крови проводилось по методу Королюк М.А. (1988), который основан на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс. Активность каталазы определялась по преобразованию ферментом субстрата (пероксида водорода), который способен к образованию окрашенного комплекса с солями молибдата аммония.

Реактивы: 1. 0,03% раствор перекиси водорода (H2O2);

2. 4% раствор молибдата аммония.

Приготовление реактивов к работе:

1. 0,03% раствор перекиси водорода (H_2O_2) – 1 мл раствора перекиси водорода (H_2O_2) + 100 мл дистиллированной воды.

2. 4% раствор молибдата аммония – 4 грамма молибдата аммония + 100 мл дистиллированной воды.

Ход определения. Опытная проба – 2 мл 0,03% раствора H_2O_2+ 0,1 мл сыворотки. Холостая проба – вместо сыворотки внести 0,1 мл дистиллированной воды. Для коррекции результатов приготовить контрольную пробу – вместо перекиси добавить 2,0 мл дистиллированной воды. Пробы инкубировать 10 минут при 37^0C в термостате. Затем следует остановить реакцию добавлением 1,0 мл 4% раствора молибдата аммония. После этого пробы центрифугировать в течение 10 минут при 3000 об/мин. Измерить оптическую плотность холостой и опытной проб против контроля на КФК-3 при длине волны 410 нм.

Расчет по формуле: Е = (А хол – А опт) × V × t × К × 100

Е – активность каталазы в мкат / л;

А – оптическая плотность холостой и опытной проб;

V – объем вносимой пробы, 01 мл;

t – время инкубации, 600 с.;

К – коэффициент миллимолярной экстинции перекиси водорода, равный 22,2 × 10^3 мм -1 × см -1.

За единицу активности каталазы принимают то количество фермента, которое участвует в превращении 1 мкат H_2O_2 за 1 секунду при заданных условиях. Расчет активности каталазы ведут на 1 л сыворотки крови.

Определение активности ГЛП в сыворотке крови проводилось по методу Prohaska J.R. (1986) на КФК-3 по скорости окисления НАДФН в инкубационной пробе при длине волны 340 нм. Принцип метода основан на том, что ГЛП (селенсодержащий фермент), восстанавливая гидропероксиды, окисляет восстановленный глутатион (H2O2 + G-S-H ---------- 2 H_2O_2 + G-SS-G), при

уменьшении которого в среде инкубации определяется активность фермента ГЛП [18].

Реактивы:

1. 0,1 моль/л фосфатный буфер, pH – 7,4. Для этого 6,8 г KH_2PO_4 растворяют в 500 мл дистиллированной воды, 11,4 г $K_2HPO_3{\times}3H_2O$ в 500 мл H_2O_2 и смешивают полученные растворы под контролем до необходимого pH;

2. 31,88 ммоль/л раствор восстановленного глутатиона, то есть 24,29 мг/мл восстановленного глутатиона;

3. 14,52 мг натрия азида и 27,68 мг ЭДТА-Na растворяют в 35 мл фосфатного буфера, pH – 7,4. Раствор готовят непосредственно перед исследованием;

4. 13,8 ммоль/л пероксида водорода;

5. 1,49 мг/мл НАДФН (используют вместо реактива Эллмана).

Можно приготовить реактив Эллмана (39,6 мг 5,5 – дитио-бис (2-нитробензойной кислоты) растворяют в 10 мл абсолютного метилового спирта.

Ход определения: 0,05 мл исследуемой сыворотки в соответствии 1:10 внести в кювету с длиной оптического пути 10 мм, которая содержит 1,8 мл калий-фосфатного буфера с с pH- 7,4, 0,1 мл восстановленного глутатиона, а после инициации добавить 0,1 мл раствора H_2O_2 и 0,05 мл НАДФН. Измерить оптическую плотность в кювете 10 мм при длине волны 340 нм в течение 3 минут. За единицу активности принимают количество фермента, необходимого для восстановления 1 мкмоля ГЛП в 1 минуту. При расчетах используют коэффициент молярной экстинции для НАДФН равный 6,22.

Мы воспользовались другим вариантом метода определения активности фермента в сопряженной с глутатионредуктазной системой по скорости окисления НАДФН. При этом, оптическую плотность каждой пробы измеряют против воды на спектрофотометре при длине волны 340 нм. При этом способе оценки не требуется использование реагента Эллмана, а также возможен кинетический способ измерения.

Расчет активности глутатионпероксидазы в крови проводят по формуле:

$$E = \frac{A \times Vp.c. \times 10\ 6}{V\ пр. \times l \times E \times t}$$

E – активность фермента, мкмоль / (мкмоль/л/мин);

A – разность экстинции проб;

Vpc - объем реакционной смеси – 2,05 мл;

V пр – объем пробы;

l - длина оптического пути – 1 см;

E – молярный коэффициент светопоглощения НАДФН при длине волны 340 нм, равный $6{,}22 \times 10^3$ м -1 × см -1;

t – время наблюдения 3 минуты.

Исследование маркеров метаболизма железа. В качестве показателей матаболизма железа исследовались уровни сывороточного железа, ферритина, а также ОЖСС. Исследование содержания железа в сыворотке крови и ОЖСС проводилось на автоматическом биохимическом анализаторе Landwind LW C200i (Китай) с помощью диагностических реагентов "Диакон ДС" (Диакон-DiaSys) ЗАО "Диакон" (Россия) и фирмы "ДиаСис" (Германия).

Концентрация ферритина в сыворотке крови больных ХГС определялась методом ИФА на анализаторе Stat Fax 2100 (Awareness Technology, США) с использованием реактивов производителя ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск, Россия). Диапазон референсных значений сывороточного уровня ферритина, указанных производителем реагента, составляет для мужчин 20-350 нг/мл, для женщин – 10-150 нг/мл.

Определение сывороточных концентраций факторов роста и цитокинов. В качестве факторов роста были изучены концентрации ВЭФР и Г-КСФ в сыворотке крови методом ИФА на анализаторе Stat Fax 2100 (Awareness Technology, США) с использованием одноименных реактивов ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск, Россия). Диапазон измеряемых концентраций ВЭФР составлял 0–2000 пг/мл. Диапазон референсных значений ВЭФР, указанных производителем

реагента равнялся 10–46 пг/мл (средняя концентрация – 127 пг/мл). Диапазон измеряемых концентраций Г-КСФ составлял 0–500 пг/мл. Диапазон референсных значений Г-КСФ, указанных производителем реагента равнялся 0–40 пг/мл (средняя концентрация – 9 пг/мл).

Сывороточные концентрации провоспалительных цитокинов ФНО-α, ИЛ-6 и ИЛ-17 изучались методом ИФА на анализаторе Stat Fax 2100 (Awareness Technology, США) с использованием одноименных наборов ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск, Россия). Диапазон измеряемых концентраций ФНО-α составлял 0–250 пг/мл. Диапазон референсных значений ФНО-α, указанных производителем реагента равнялся 0–6 пг/мл (средняя концентрация – 0,5 пг/мл). Диапазон измеряемых концентраций ИЛ-6 составлял 0–300 пг/мл. Диапазон референсных значений ИЛ-6, указанных производителем реагента равнялся 0–10 пг/мл (средняя концентрация – 2 пг/мл). Диапазон измеряемых концентраций ИЛ-17 - 0–500 пг/мл. Диапазон референсных значений ИЛ-17, указанных производителем реагента, равнялся 0–5 пг/мл (средняя концентрация – 1,2 пг/мл).

Оценка метаболических тестов. Оценка состояния липидного и углеводного обменов производились с учетом определения в сыворотке крови концентрации глюкозы, показателей липидного спектра, С-пептида, инсулина и оценки резистентности к инсулину (индекс HOMA-IR).

Исследование уровня глюкозы и липидного профиля, включающего триглицериды (ТГ), общий холестерин (ХС), липопротеины высокой плотности (ЛПВП) и липопротеины высокой плотности (ЛПНП) проводилось на автоматическом биохимическом анализаторе «Architect-4000» (США) реактивами фирмы «Abbott» (США). Липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП) рассчитывали по формуле: ТГ/2,2, индекс атерогенности (ИА) по формуле - (ХС–ЛПВП)/ЛПВП. Концентрацию лептина в сыворотке крови определяли с помощью набора «DSL» (США), инсулина с помощью набора «MONOBIND» (США) методом ИФА на аппарате «Stat-Fax-2100» (Awareness Technology, США). Уровень С-пептида в сыворотке крови исследовали с помощью набора «C-PEPTID» (Siemens, Германия) иммунохемилюминисцентным

анализом на анализаторе «Immulait-1000» (Германия). Индекс инсулинорезистентности HOMA-IR - показатель, предложенный D.R. Matthews et al. (1985), связан с разработкой математической гомеостатической модели для оценки резистентности к инсулину (HOMA-IR - Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance). Индекс HOMA-IR рассчитывали по формуле: HOMA-IR=глюкоза натощак(ммоль/л)ˣинсулин натощак (мкЕд/мл)/22,5. Пороговое значение резистентности к инсулину, выраженной в HOMA-IR, обычно определяют как 75 перцентиль его кумулятивного популяционного распределения. Порог HOMA-IR зависим от метода определения инсулина, его сложно стандартизовать. Выбор порогового значения, кроме того, может зависеть от целей исследования и выбранной референсной группы. Индекс HOMA-IR не входит в основные диагностические критерии метаболического синдрома, но его используют в качестве дополнительного лабораторного теста для оценки инсулинорезистентности. По данным ряда авторов значение индекса HOMA-IR ≥2,5 рассматривается, как наличие инсулинорезистентности [81, 238].

Определение ОНП генов. У больного в крови выявляли однонуклеотидные полиморфные варианты гена с использованием аллель-специфической ПЦР "SNP-Скрин" ЗАО «Синтол» (г. Москва) с детекцией продуктов в режиме реального времени на амплификаторе «CFX-96» Bio-Rad Laboratories, Inc. (США).

Для определения генотипов определенного гена у всех пациентов с ХГС проводилось выделение ДНК из цельной венозной крови, предварительно стабилизированной динатриевой 3–солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА).
Геномную ДНК выделяли из периферической крови методом высаливания по стандартной процедуре. Полученные образцы ДНК сразу использовали для генотипирования, либо хранили при - 70°С. Концентрация ДНК, определенная на спектрофотометре (BioRad, США) составляла от 50 до 100 мкг/мл. Общее время процедуры выделения ДНК - 30-40 минут.

Методика тестирования генетического полиморфизма методом ПЦР включала два этапа, которые позволяют оценить мутации в режиме реального времени.

1. Отбор и подготовка проб:

1.1.Выделение очищенной ДНК методом фенол-хлороформовой экстракции.

1.2. Подготовка реактивов для лизиса клеток и очистки ДНК-матриц.

1.3. Лизис клеток и выделение очищенной ДНК.

1.4. Выделение ДНК методом нуклеосорбции.

2. Проведение ПЦР.

Амплификацию проводили на детектирующем термоциклере "CFX96" (BioRad, США). Каждый цикл амплификации включал в себя три температурных режима: денатурацию ДНК (92^0-94°С - 1 мин.), отжиг праймеров (45^0-68°С в течении 0,5-2 мин.), синтез комплементарной цепи (70^0-72°С в течении 1-3 мин.). Регистрация сигнала флюоресценции, возникающего при накоплении продуктов амплификации участков ДНК проводилась в режиме «реального времени» после стадии отжига праймеров для выбранных генов по каналу VIC – для детекции одного из аллельных вариантов генов, и по каналу FAM – для альтернативного варианта. Результаты интерпретировались с использованием метода аллельной дискриминации в зависимости от характера кривых амплификации, отображаемых в программном обеспечении для амплификатора «CFX96».

2.2.2. Методы инструментального обследования

Ультразвуковая эластография печени. В качестве референсного метода оценки выраженности фиброза была использована УЗЭ печени с оценкой плотности печени по шкале «METAVIR». Данное исследование проводилось в Пермской краевой клинической инфекционной больнице. Диагностику проводили с помощью аппарата Fibroscan 502 (Echosens, Франция). Оцениваемый объем печени при этом методе в 200-300 раз больше, чем объем образца биоптата.

Исследование проводилось в положении пациента лежа на спине с максимально отведенной за голову правой рукой. У пациентов с окружностью

грудной клетки от 75 до 110 см использовался датчик «M Probe» с рабочей частотой трансдуцера 3,5 МГц, измерение проводилось на глубине 25-65 мм от поверхности кожи. Датчик «M Probe» применялся в большинстве случаев – у 67 пациентов. У тучных людей с окружностью грудной клетки более 110 см использовался более чувствительный датчик «XL Probe» с рабочей частотой трансдуцера 2,5 МГц. В этом случае измерение плотности печени проводилось на глубине 35-75 мм от поверхности кожи [68].

Генерируемые ультразвуковым датчиком колебания передаются на подлежащие исследуемые ткани печени и создают упругие волны. Скорость распространения упругих волн определяется эластичностью печеночной ткани и позволяет выявить ранние стадии формирования фиброза. Датчик аппарата устанавливался в проекции правой доли печени по средней подмышечной линии в VIII-X межреберных промежутках. Точное позиционирование датчика осуществлялось с помощью окна визуализации: для исследования выбирался участок печеночной ткани однородной структуры, не содержащий крупных сосудистых образований. После правильной установки датчика выполнялось десять замеров, затем встроенная программа вычисляла результирующую величину плотности печени и ее достоверность. Значение плотности печени измерялось в килопаскалях (кПа).

Для оценки стадии ФП у исследуемых лиц методом УЗЭ были использованы пороговые значения, предлагаемые отечественными гепатологами В.Т. Ивашкиным и Ч.С. Павловым [68]. Эти величины очень близки к тем, которые используют некоторые зарубежные исследователи [172]. При плотности печени менее 5,8 кПа делался вывод об отсутствии фиброза (стадия F0). Значение в интервале от 5,8 до 7,1 кПа позволяло диагностировать первую стадию фиброза (F1). Эластичность печени от 7,2 до 9,5 кПа соответствовала второй стадии (F2). Третья стадия фиброза (F3) определялась при значениях от 9,6 до 12,5 кПа. В том случае, если плотность печени превышала 12,5 кПа, диагностировался ЦП (F4).

Скорость развития фиброза (СРФ) была рассчитана у 110 больных ХГ, как соотношение стадии фиброза (в баллах) к длительности заболевания (в годах)

по методу T. Poynard (1997) [312]. Данный показатель является количественным отражением темпа прогрессирования ФП.

Биопсия печени. У 20 пациентов была проведена лапароскопическая биопсия печени. Исследование проводилось в отделении хирургии ФГБУ «3 Центральный военный центральный клинический госпиталь им. А.А. Вишневского» Минобороны РФ (Московская обл., Красногорский район, поселок Новый) с письменного согласия пациента и при наличии четких медицинских показаний. Исследование образцов ткани выполнялось в гистологической лаборатории ФГБУ 3 ЦВКГ им. А.А. Вишневского Минобороны РФ, г. Красногорск. Заключение патоморфолога позволяло установить более точный морфологический диагноз в спорных случаях. При этом, помимо стандартного описания гистологической картины оценивался индекс фиброза по шкале «METAVIR»**.** Данная гистологическая шкала была использована для стадирования фиброза при разработке метода УЗЭ. Индекс фиброза по «METAVIR» принимает значения от 0 (фиброз отсутствует) до 4 (цирроз печени), что полностью совпадает с градацией фибропроцесса при эластографии печени.

2.3. Схемы терапии

Для оценки влияния терапии интерферонами короткого и пролонгированного действия на обратное развитие фиброза больные ХГ были разделены на две группы по 20 и 30 человек в каждой для проведения индивидуальной схемы терапии. Этиотропная терапия пациентам исследуемой группы проводилась с учетом современных рекомендаций по терапии ХГС. При оценке показаний для назначения этиотропной терапии учитывали три группы показателей [36].

1. Активность репликации вируса и уровень вирусемии.
2. Активность трансаминаз (АЛТ, АСТ).
3. Степень фиброза по шкале «METAVIR» по данным УЗЭ.

В качестве основного препарата все пациенты получали препарат из группы рекомбинантных интерферонов альфа-2b, обладающих противовирусной, противоопухолевой и иммуномодулирующей активностью.

Первая группа больных ХГ (n=20) получали пролонгированный интерферон ПегИнтрон (Пег-ИФН-α-2b) (Schering-Plough Ltd. США) в виде п/к инъекций в дозе 1-1,5 мкг/кг 1 раз в неделю. ПегИнтрон является пегилированным (т.е. соединенным с полиэтиленгликолем) производным интерферона альфа-2b, в состав которого входит сывороточный альбумин.

Вторая группа пациентов (n=30) получали отечественный препарат короткого действия Альтевир (интерферон альфа-2b) (ОАО «Фармстандарт», Россия) внутримышечно через день по 3 млн. Ед. Все пациенты в качестве комбинирующего препарата получали отечественный противовирусный препарат Рибавирин («Фармстандарт», Россия) внутрь ежедневно в индивидуально подобранных дозах в зависимости от массы тела. Дозировка рибавирина рассчитывалась в соответствии с инструкцией по применению препарата.

Длительность терапии интерферонами составляла во всех группах 24 недели при генотипах HCV-2 и HCV-3 и 48 недель - при генотипе HCV-1 [36]. У всех больных на момент окончания лечения оценивали лабораторные и инструментальные маркеры фиброза, медиаторы воспалительного процесса, тесты ПОЛ и АОС, динамику СРФ, клинические и биохимические параметры, вирусологический ответ (непосредственный и устойчивый).

2.4. Статистическая обработка материалов исследования

Цифровые данные, полученные в результате исследования, обрабатывали с помощью компьютерных программ «STATISTICA 6.0», встроенного пакета анализа табличного процессора «Microsoft Excel 2010», а также авторского [В.С. Шелудько, 2001] пакета прикладных электронных таблиц «Stat-2000».

Для изучения характера распределения данных применялся критерий Колмогорова-Смирнова. Если вероятность ошибки (p) критерия Колмогорова-Смирнова для параметра оказывалась статистически значимой, отвергалась нулевая гипотеза о нормальности распределения, и распределение признавалось неравномерным. В противном случае считалось, что данные распределены нормально. При нормальном распределении были использованы параметрические

методы статистической обработки. Данные для количественных признаков описывались в виде медианы и интерквантильного интервала (25-ый и 75-ый процентили), обозначаемых далее Me [25; 75], а также с помощью среднего и стандартного отклонения (M±σ). Для определения статистической значимости различий непрерывных величин в двух независимых группах использовался непараметрический критерий Манна-Уитни (Mann-Whitney), для качественных признаков различия установлены методом χ2. При сравнительном анализе трех и более групп по количественным признакам использовался критерий Краскел-Уоллиса (Kruscal-Wallis). Для исследования зависимостей между количественными переменными использовались коэффициенты (r) линейной корреляции Пирсона (при нормальном распределении переменных) и ранговой корреляции Спирмена (при неравномерном распределении значений измеряемых величин). Если коэффициент был более 0,7, делался вывод о сильной корреляции. Значение r от 0,3 до 0,7 расценивалось как умеренная корреляция, а значения r менее 0,3 – как слабая. Различия считались достоверными при $p<0,05$.

Для описания соотношения частот генотипов и аллелей изучаемых генов использовали равновесие Харди-Вайнберга. Исследуемые группы находились в равновесном (устойчивом) состоянии по частотам генотипов изученного гена ($p > 0,05$). Для частотного анализа использовался метод χ2. Различия в двух популяциях рассчитывались по отношению шансов (OR) с использованием подхода "случай-контроль" для различных моделей наследования: аддитивной, общей, мультипликативной, доминантной и рецессивной и считались достоверными при $p<0,05$. Определение зависимости между изучаемыми качественными признаками проводилось по таблице сопряженности (кросстабуляции). Для оценки связи (степени зависимости) двух признаков рассчитывалась величина статистического *критерия Хи-квадрат* по формуле:

$$\chi^2 = \left\{ \sum_{i=1}^{r} \sum_{j=1}^{s} \frac{F_{ij}^2}{F_i F_j} - 1 \right\} \cdot n \quad ,$$

где χ^2 – критерий Хи-квадрат, r – число градаций факторного признака, s - число градаций результирующего признака, Fij - частота в каждой клетке таблицы сопряженности, Fi – сумма i-й строки, Fj – сумма j-го столбца, n – объем выборки. Зависимость считалась статистически достоверной при $p < 0,05$. Сила связи признаков измерялась *коэффициентом сопряженности (информативности) Пирсона* в следующем виде

$$Ki = \sqrt{\frac{\chi^2}{(\chi^2 + n)}} \cdot \sqrt{\frac{a}{(a-1)}} \quad ,$$

где Ki – коэффициент сопряженности, χ^2 – критерий Хи-квадрат, n – объем выборки, $a = min\ (r,s)$.

Сила связи признаков измерялась коэффициентом сопряженности (информативности) Пирсона. Зависимость считалась статистически достоверной при $p< 0,05$. Для оценки зависимости количественного и качественного признаков количественные признаки были преобразованы в качественные по квартильным отклонениям: значения признака, меньшие *Q1* (1-я квартиль), обозначались как 1; значения между *Q1* (1-я квартиль) и *Q3* (3-я квартиль) – как 2, значения, большие *Q3* (3-я квартиль) – как 3 [108]. Зависимость одной переменной от других независимых переменных осуществлялась с помощью регрессионного анализа. При наличии достоверной выраженной зависимости признаков строилось уравнение *множественной регрессии* вида:

$$Y = A_0 + A_1 \cdot X_1 + A_2 \cdot X_2 + \ldots + A_n \cdot X_n \ ,$$

где Y – зависимый (предсказываемый) признак, $X_1 \ldots X_n$ – независимые (факторные) признаки, $A_0 \ldots A_n$ – числовые коэффициенты. Уравнение регрессии считалось достоверным при оценке с помощью критерия Фишера F при $p < 0,05$. Значение Ry^2 (квадрат коэффициента множественной корреляции), умноженное на 100, позволяло оценить в процентах вклад сочетания факторных признаков $X_1 \ldots X_n$ в дисперсию признака Y. Оценка адекватности прогноза проводилась по четырехпольной таблице с расчетом показателей чувствительности и специфичности, а также показателей воспроизводимости и соответствия. Прогноз считался хорошим при чувствительности и специфичности $\geq 90\%$,

воспроизводимости ≥ 75%, соответствия ≥ 90%, удовлетворительным – при чувствительности ≥ 80%, специфичности ≥ 75%, воспроизводимости ≥ 50%, соответствия ≥ 75% [22]. Метод множественной регрессии был использован для вычисления уравнений, позволяющих рассчитать значение фиброза печени по биохимическим и инструментальным показателям. Статистическая значимость уравнения регрессии оценивалась по критерию Фишера. Если значимость критерия Фишера была менее 0,05, уравнение считалось статистически достоверным. Нулевая гипотеза отвергалась при уровне статистической значимости $p<0,05$. Для расчета пороговых значений и диагностической эффективности показателей, имеющих предикторную ценность проводился ROC-анализ и расчет отношения шансов (QR). Предсказательную ценность каждого параметра оценивали по шкале значений площади под ROC-кривой (Area Under Curve – AUC), которая позволяет выделить отличное, очень хорошее, хорошее, среднее и неудовлетворительное качество моделей. Чем выше показатель AUC, тем большей прогностической силой обладает модель.

ГЛАВА 3. ВЗАИМОСВЯЗЬ МАРКЕРОВ ФИБРОЗА С ЕГО ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИМИ ФАКТОРАМИ И МЕТАБОЛИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕЧЕНИ

3.1. Характеристика стадий фиброза и диагностическая ценность его маркеров при хронических заболеваниях печени

В качестве референсного метода оценки стадии ФП у больных ХГ была использована УЗЭ на аппарате Fibroscan 502 (Echosens, Франция). По результатам данного исследования в соответствии с пороговыми значениями пациенты были разделены на подгруппы в зависимости от стадии фиброза. Подгруппу без фиброза F0 с нормальной плотностью печени составили 57 (38%) человек, с фиброзом стадий F1-F4 – 93 (62%) пациента. Фиброз первой степени (F1) выявлен у 35 (23%) больных. Вторая стадия (F2) диагностирована у 25 (17%) участников исследования, третья стадия (F3) – у 10 (7%) пациентов, 23 (15%) больных имели фиброз четвертой стадии (F4), что соответствует ЦП в исходе ХГ (рис. 5).

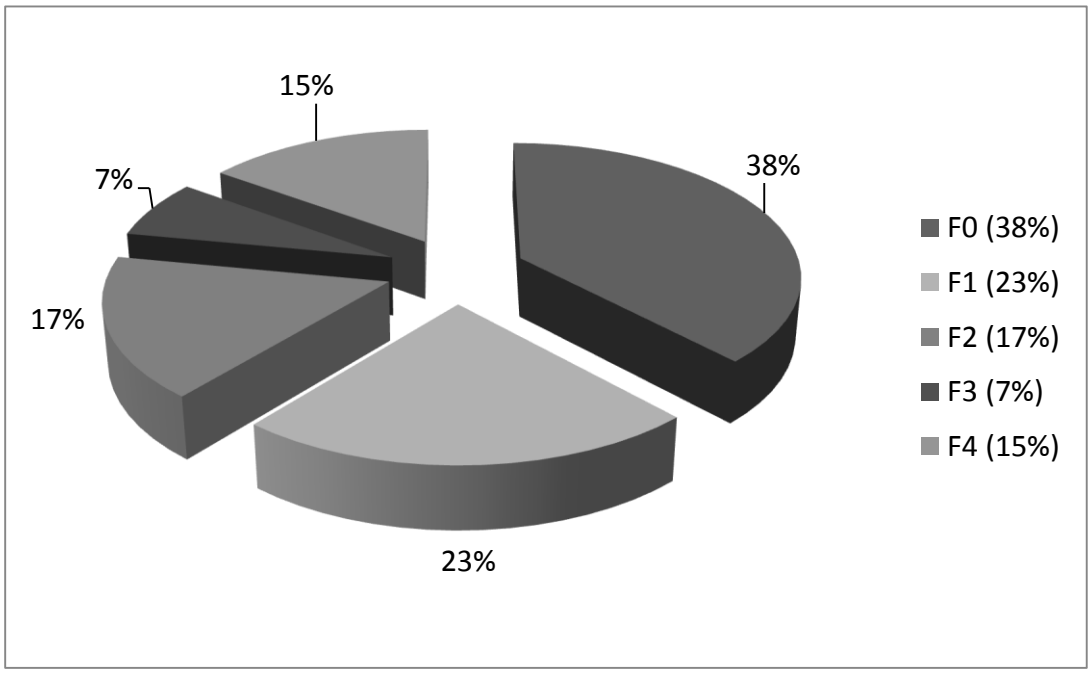

Рис. 5. Распределение пациентов с ХГ по стадиям фиброза.

В среднем в группе больных ХГ по данным УЗЭ плотность печени составила 6,8 (5,5; 8,9) кПа. Значения плотности печеночной ткани в зависимости от стадии фиброза представлены в таблице 2.

Таблица 2

Плотность печени по данным УЗЭ в зависимости от стадии фиброза, Me (25; 75)

Стадия фиброза	**Плотность печени*, кПа**
F0 (n=57)	4,9 (4,4; 5,5)
F1 (n=35)	6,65 (6,1; 6,9)
F2 (n=25)	8,0 (7,7; 8,9)
F3 (n=10)	11,6 (10,7; 13,3)
F4 (n=23)	23,9 (17,3; 35,7)

Примечание: *различия достоверны во всех группах сравнения, p<0,001.

Выявлено нарастание фиброза по мере увеличения возраста, особенно значимо при переходе в выраженную стадию (F3) из умеренной (F1–2) (p=0,04) (рис. 6), что подтверждается корреляционным анализом между возрастом и стадией заболевания (p=0,01).

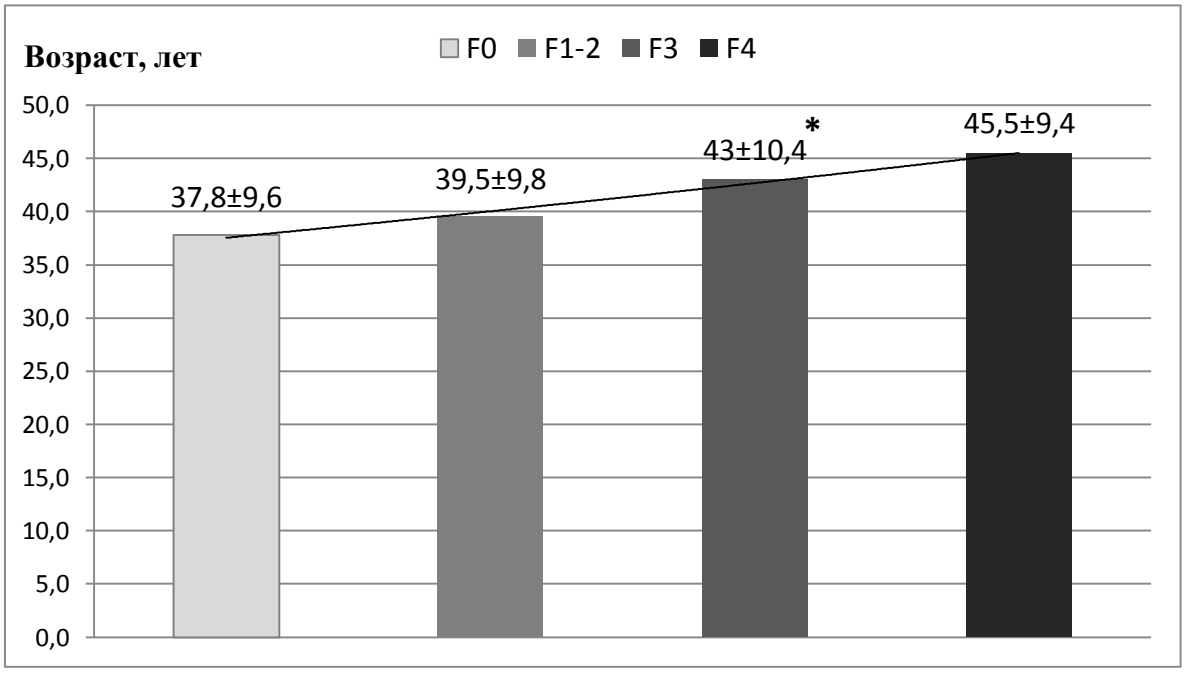

Рис. 6. Возраст пациентов с ХГ в зависимости от стадии фиброза печени, p<0,05.

Плотность печени у мужчин (n=74) по данным УЗЭ составляла 7,8 (6,5; 10,15) кПа и была значимо больше, чем у женщин (n=76) - 6,75 (5,5; 8,7) кПа (p=0,03) (рис. 7). То есть, у мужчин наблюдались более выраженные признаки ФП.

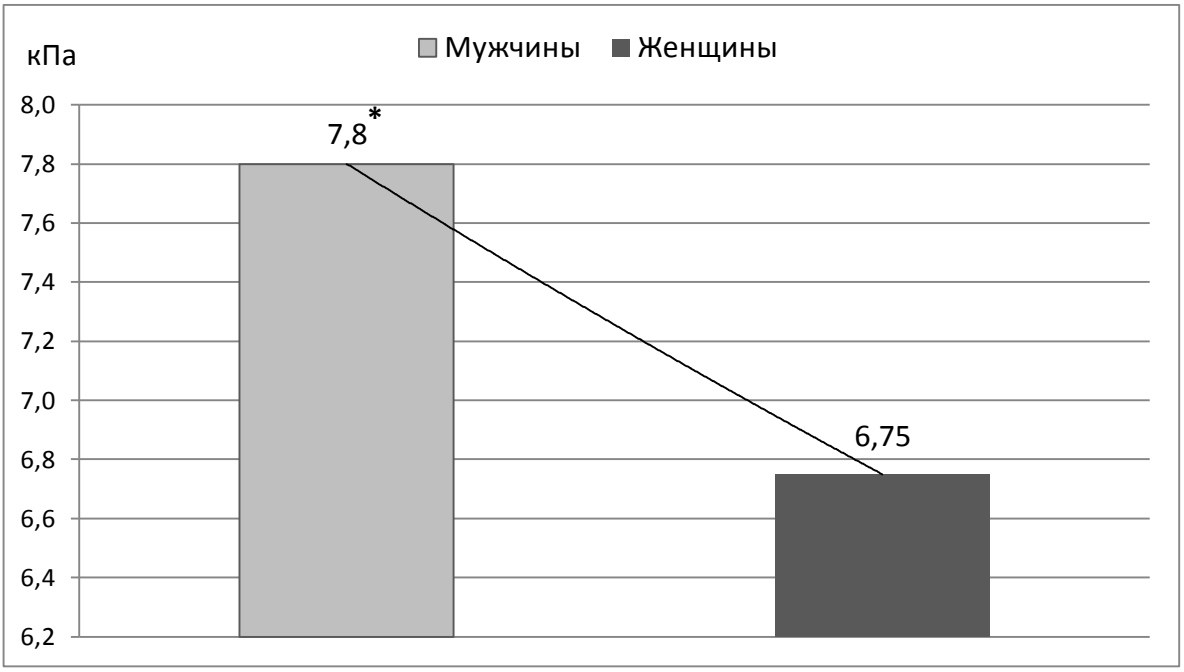

Рис. 8. Плотность печени по УЗЭ у мужчин и женщин, p<0,05.

Характеристика группы больных ХГ по клиническим данным с учетом стадии ФП представлена в таблице 3.

Таблица 3

Характеристика группы больных ХГ по клиническим данным в зависимости от стадии фиброза по УЗЭ

Клинические синдромы	**F0 (n=57)**	**F1-2 (n=60)**	**F3 (n=10)**	**F4 (n=23)**
Мужчины (n,%)	27 (45%)	26 (43%)	7 (70%)	14 (61%)
Мужчины (n,%)	30 (55%)	34 (57%)	3 (30%)	9 (39%)
Клинические синдромы:				
Астенический (n,%)	3 (5%)	16 (27%)	8 (80%)	23(100%)
Диспепсический (n,%)	2 (3,5%)	9 (15%)	4 (40%)	13 (56%)
Болевой (n,%)	3 (5%)	7 (12%)	3 (30%)	5 (22%)
Желтуха (n,%)	0	2 (3%)	3 (30%)	10 (43%)
Геморрагический (n,%)	0	0	0	11 (48%)

Портальная гипертензия (n,%)	0	0	0	6 (26%)

Клиническая симптоматика в целом нарастала с увеличением стадии фиброза, однако была достаточно вариабельна. Если при легком фиброзе доминировали субъективные жалобы и клинические признаки активности заболевания, то при ЦП в исходе ХГ у части больных отмечались явления портальной гипертензии. Из клинических симптомов наиболее чпсто присутствовал астенический синдром.

При исследовании уровня прямого лабораторного маркера фиброза печени – ГК в сыворотке крови обнаружено достоверное повышение ее значений у больных ХГ в сравнении с группой здоровых лиц (p=0,01). Маркер регенерации гепатоцитов АФП у пациентов с ХГ был повышен практически в 2 раза в сравнении с группой контроля (p=0,02) (табл. 4).

Таблица 4

Значения ГК и АФП при ХГ и в группе контроля, Me (25; 75)

Показатели	**Гр. контроля (n = 100)**	**ХГ (n = 150)**	**p**
ГК, нг/мл	21,0 (8,0; 30,1)	35,4 (19,3; 61,1)	**0,01**
АФП, МЕ/мл	1,22 (0,9; 1,59)	2,3 (1,59; 3,5)	**0,02**

Примечание: p – достоверность различий.

Статистически достоверных различий сывороточных значений ГК и АФП у мужчин и женщин с ХГ не найдено (p=0,4 и p=0,92, соответственно). Средняя концентрации ГК у больных с умеренным фиброзом (F1–2) в 2 раза превышала уровень этого показателя в группе с отсутствием ФП (F0) (p=0,001), в 2 раза была выше при выраженном фиброзе (F3) в сравнении с умереным фиброзом (p=0,001), а также позволяла дифференцировать стадии F3 и F4 (p=0,01). Уровень АФП в сыворотке больных с фиброзом F1-2 не имел достоверных отличий от этого показателя в группе с F0 (p=0,96), при этом в 1,8 раз был выше при выраженном фиброзе (F3) в сравнении со стадиями F1–2 (p=0,03) и позволял дифференцировать тяжелый фиброз F3 от доклинической стадии ЦП в исходе ХГ (p=0,04) (табл. 5).

Таблица 5

Значения ГК и АФП в зависимости от стадии фиброза при ХГ и в группе с АЦП, Me (25; 75)

Стадия фиброза	**ГК, нг/мл**	**АФП, МЕ/мл**
F0 (n = 57)	24,0 (18,2; 30,6)	2,1 (1,47; 2,6)
F1-2 (n = 60)	48,9 (43,3; 52,3)[1]	2,26 (1,5; 2,9)
F3 (n = 10)	83,1 (56,5; 99,7)[2]	4,1 (2,5; 5,3)[2]
F4 (n = 23)	163,1 (106,4; 212,2)[3]	5,1 (2,7; 7,59)[3]
АЦП (n = 20)	410,6 (172; 781)[4]	5,5 (2,8; 7,7)

Примечание: [1] – различия достоверны в группе с F1-2 в сравнении с F0; [2] – различия достоверны в группе с F3 в сравнении с F1-2; [3] – различия достоверны в группе с F4 в сравнении с F3; [4] - различия достоверны в группе с АБП в сравнении с F4 при ХГ.

Таким образом, определение прямого лабораторного маркера ГК в сыворотке крови позволяет диагностировать все стадии ФП при ХГ, а оценка уровня маркера регенерации гепатоцитов АФП – дифференцировать выраженный фиброз от умеренного и переход ХГ в ЦП.

У больных АЦП медиана концентрации ГК в крови в 2,5 раза превышала уровень показателя при ЦП в исходе вирусного гепатита (p=0,001), а значения АФП не имели достоверных отличий (p=0,13) (табл. 5).

В группе с ХГ найдена прямая корреляционная связь значений ГК и АФП с плотностью печени (r=0,79; p<0,001 и r=0,53; p<0,001, соответственно), возрастом (r=0,61; p<0,001 и r=0,45; p=0,01, соответственно), а также взаимосвязь параметров ГК и АФП (r=0,3; p=0,03). У пациентов с АЦП также была выявлена достоверная взаимосвязь ГК с АФП (r=0,41; p=0,03) и возрастом больных (r=0,4; p=0,03).

Полученные данные свидетельствуют, что прогрессирование процессов фиброза при патологии печени связано с активацией репаративных механизмов при ее хроническом воспалении, что проявляется увеличением сывороточных уровней ГК и АФП, отражающих степень повреждения ткани печени.

У 20 пациентов с ХГ была проведена лапароскопическая биопсия печени. Заключение патоморфолога позволяло установить более точный морфологический диагноз в спорных случаях, когда у больных были пограничные уровни значения плотности печени при УЗЭ. При этом, помимо стандартного описания гистологической картины оценивался индекс фиброза по шкале «METAVIR». Данная гистологическая шкала была использована для стадирования фиброза при разработке метода УЗЭ. Индекс фиброза по METAVIR принимает значения от 0 (фиброз отсутствует) до 4 (цирроз печени), что полностью совпадает с градацией фибропроцесса при УЗЭ печени. По данным биопсии печени у 9 пациентов определено отсутствие фиброза печени (F0), у 3 больных выявлен фиброз печени стадии F1, стадия F2 диагностирована у 2 пациентов, стадия F3 – у 2 участников исследования, 4 больных ХГ имели фиброз стадии F4, что соответствует ЦП в исходе ХГ. Данные биопсии печени у этих пациентов были сопоставимы с результатами УЗЭ.

Встречаемость генотипов HCV в исследуемой группе пациентов с ХГ составила: HCV-1 - 46%, HCV-2 – 11% и HCV-3 - 43%. При этом, достоверной разницы в частоте встречаемости генотипов у мужчин и женщин не выявлено (p=0,78). Анализ распределения генотипов HCV в подгруппе больных с отсутствием фиброза (F0) и у пациентов со стадиями F1- 4 не выявил достоверной разницы в частоте встречаемости HCV-1, HCV-2 и HCV-3 (p=0,78).

Плотность печени по данным УЗЭ в подгруппе больных с генотипом HCV-1 в среднем составила 6,65 (5,3; 7,8) кПа, что не имело значимых отличий от пациентов с генотипами HCV-2 и HCV-3, у которых данный параметр имел значения в среднем 6,7 (5,5; 8,3) кПа (p=0,9). Сывороточный уровень ГК в подгруппе больных, инфицированных HCV-1 равнялся 29,3 (19,8; 43,2) нг/мл, у больных с генотипами HCV-2 и HCV-3 – 38,3 (22,6; 67,6) нг/мл (p=0,17). Концентрация АФП у пациентов с HCV-1 равнялась 2,7 (1,7; 4,13) и была в 1,3 раза выше, чем данный показатель у лиц с генотипами HCV-2 и HCV-3 - 2,04 (1,4; 2,6) (p=0,04). Таким образом, параметры фиброза у пациентов с разными генотипами вируса не имели достоверных различий.

Уровень вирусемии в исследуемой группе пациентов составил в среднем 3,75 (1,3; 8,8)×10^6 копий/мл. Показатели демонстрировали большие разбросы значений. Вирусная нагрузка (ВН) у 100 (67%) больных была высокая - выше 2×10^6 копий/мл и составила в среднем 5,65 (3,45;14,0)×10^6 копий/мл. У 50 (33%) пациентов уровень вирусемии был низкий - ниже 2 ×10^6 копий/мл, в среднем – 0,92 (0,35;1,2)×10^6 копий/мл (рис. 9).

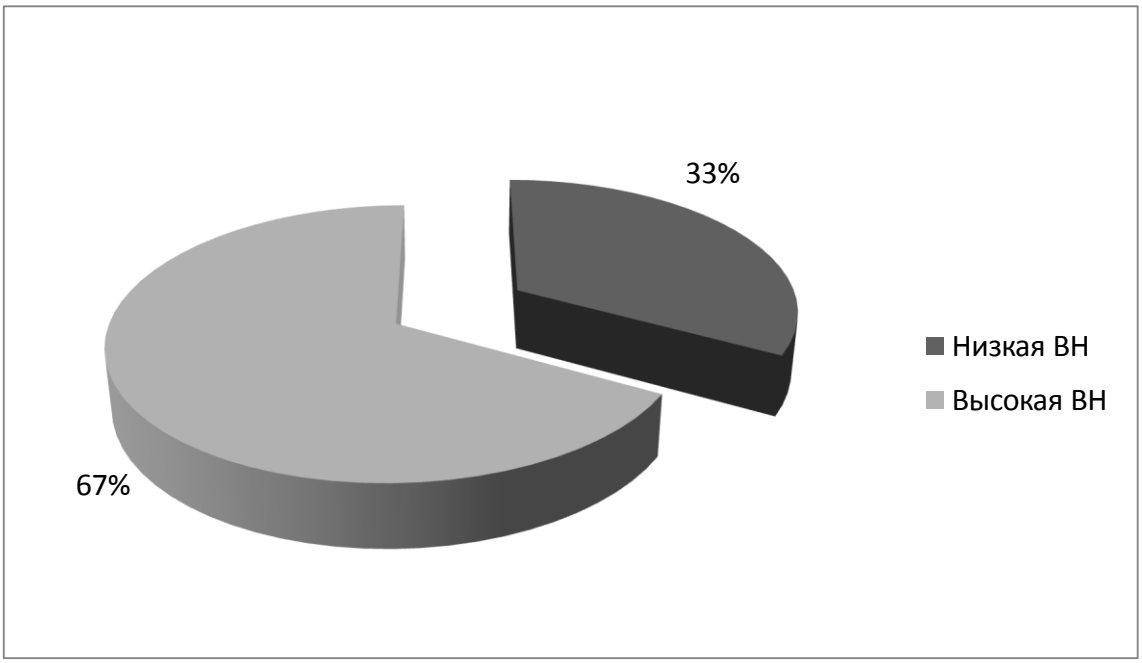

Рис. 9. Распределение уровня вирусемии в исследуемой группе с ХГ.

ВН у мужчин с ХГ составляла 5,9 (2,1;15)×10^6 копий/мл и была почти в 2 раза выше, чем у женщин – 3,0 (1; 5,1)×10^6 копий/мл (p=0,004). Уровень вирусемии у пациентов со стадией F4 был самым высоким и имел значения 6,4 (3,2; 41,7)×10^6 копий/мл (p=0,04).

Плотность печени по данным УЗЭ в подгруппе больных с низкой ВН (медиана – 0,92 ×10^6 копий/мл) составила 6,3 (5,0; 8,6) кПа, у пациентов с высокой вирусемией (медиана – 5,65×10^6 копий/мл) - 6,65 (4,9; 8,4) кПа, что не имело достоверных различий (p=0,3).

Уровень ГК в сыворотке крови больных с высокой ВН в 1,3 раза превышал значения этого показателя у пациентов с низкой вирусемией (p=0,04). Значения АФП у пациентов с низкой и высокой ВН достоверных различий не имели (p=0,96) (табл. 6).

Таблица 6

Плотность печени, значения ГК и АФП в зависимости от уровня вирусемии, Me (25; 75)

Показатели	**Генотипы**		**p**
	Низкая ВН (n=50)	**Высокая ВН (n=100)**	
Плотность печени, кПа	6,3 (5,0; 8,6)	6,65 (4,9; 8,4)	0,3
ГК, нг/мл	30,3 (17,3; 39,6)	40,6 (24,0; 66,7)	**0,04**
АФП, МЕ/мл	2,1 (1,86; 2,9)	2,36 (1,7; 2,8)	0,96

Примечание: p – достоверность различий.

То есть, повышение ВН сопровождается активацией выработки ГК. При корреляционном анализе в исследуемой группе с ХГ были выявлены достоверные взаимосвязи ВН с мужским полом пациентов (r=0,28; p=0,01) и ГК (r=0,43; p=0,002). Взаимосвязи вирусемии с генотипом HCV (r=0,2; p=0,88) и значениями плотности печени по данным УЗЭ (r=0,05; p=0,69) отсутствовали.

Таким образом, репликативная активность HCV более выраженна у мужчин и сопровождается прогрессированием фиброза. При этом, у лиц, инфицированных HCV-1 значительно активизированны процессы регенерации в печени.

3.2. Взаимосвязь биохимических тестов с выраженностью фиброза

По данным лабораторных тестов у пациентов с ХГ были достоверно повышены трансаминазы АЛТ и АСТ в сравнении с группой практически здоровых лиц, что свидетельствует о наличии цитолитического синдрома. У 50 (33%) обследованных лиц гиперферментемия отсутствовала. Средний уровень АЛТ у больных ХГ в 3,2 раза превышал этот показатель в группе контроля и составил 58,0 (37;101) Е/л (p<0,001). Концентрация АСТ была почти в 2 раза выше по сравнению с группой здоровых лиц и составила 37,0 (28; 60) Е/л (p<0,001). Значимое повышение активности ГГТП, сопровождающее холестаз и цитолиз гепатоцитов, в сочетании с гипербилирубинемией за счет конъюгированного билирубина и увеличение активности ЩФ подтверждает

наличие холестатического синдрома у больных ХГ. Среднее содержание конъюгированного билирубина у лиц данной группы составило 4,0 (2,8; 6) мкмоль/л (p=0,005), при этом гипербилирубинемию имели 31 (21%) больных ХГ. Средний уровень ГГТП у пациентов составил 30,0 (20; 56) Е/л (p=0,03). У 38 (25%) пациентов содержание ГГТП превышало показатели контрольной группы. Достоверное повышение тимоловой пробы (p=0,01) у 68 (45%) больных указывает на диспротеинемию за счет увеличения грубодисперсных белков – глобулинов и подтверждает синдром мезенхимального воспаления. Снижение количества тромбоцитов наблюдалось у 23 (15%) пациентов с ХГ (p=0,04) (табл. 7).

Таблица 7

Биохимические показатели и количество тромбоцитов у больных ХГ и в группе контроля, Me (25; 75)

Показатели	**Гр. контроля (n=100)**	**ХГ (n=150)**	**Мужчины (n=74)**	**Женщины (n=76)**
АЛТ, Е/л	18,0 (12; 20)	58,0 (37;101)[1]	70,0 (44-111)[2]	46,5 (28; 88)
АСТ, Е/л	20,0 (18; 25)	37,0 (28; 60)[1]	40,0 (31; 70)[2]	35,0 (25; 53)
Билирубин общ,мкмоль/л	10,1(7,9; 13,8)	11,2 (7,4; 16)	12,4 (8,3; 20)[2]	9,4 (7; 15)
Билирубин пр., мкмоль/л	3,2 (2,4; 3,8)	4,0 (2,8; 6)[1]	4,8 (3,1; 7)[2]	3,6 (2,6; 4,6)
ЩФ, Е/л	58,0 (49; 74)	66,0 (52; 82)	68,0 (55; 86)	64,0 (51; 77)
ГГТП, Е/л	15,8(15;21,8)	30,0(20;56)[1]	42,0 (26,7;69)[2]	24,0 (17; 38)
Общ. белок, г/л	70,0 (66;74,5)	73,0 (70; 76)	74,0 (70; 79)	72,5 970; 79)
Альбумин, г/л	46,5 (42; 48,7)	47,1(43,7; 49)	47,0 (44; 49)	47,1(43; 49,1)
Тимоловая проба, Ед S-H	2,42 (1,9; 3,2)	6,95 (4,3;9,9)[1]	7,7 (5,1; 10,3)[2]	5,4 (3,2; 9,4)
Тромбоциты, $*10^9$/л	310 (259; 338)	247(199;302)[1]	238(206; 299)	249(193;304)

Примечание: [1] – различия достоверны в группе больных ХГ в сравнении с контролем, [2] – различия достоверны у мужчин в сравнении с женщинами.

У мужчин с ХГ отмечено более значительное повышение уровней АЛТ (p=0,001), АСТ (p=0,04), концентрации прямого билирубина (p=0,01), ГГТП (p<0,001) и значений тимоловой пробы (p=0,04) в сравнении с женщинами (см. табл. 7). Эти данные свидетельствует о взаимосвязи выраженности синдромов цитолиза, холестаза и мезенхимального воспаления при ХГ с мужским полом.

При анализе биохимических параметров, отражающих функцию печени в зависимости от уровня вирусемии у пациентов с высокой ВН (медиана – 5,65 ×10^6 копий/мл) отмечено более значительное повышение уровней цитолитических ферментов АЛТ и АСТ (p=0,001 и p=0,01, соответственно), концентрации общего и прямого билирубина (p=0,01 и p=0,04, соответственно) в сравнении с больными, имеющими низкий уровень вирусемии (медиана – 0,92×10^6 копий/мл), что свидетельствует об ассоциации выраженности синдромов цитолиза и холестаза с высокой ВН (табл. 8).

Таблица 8

Биохимические показатели и количество тромбоцитов в зависимости от генотипа и вирусемии при ХГ, Me (25; 75)

Показатели	**HCV-1 (n=74)**	**HCV-2 и 3 (n=76)**	**Низкая ВН (n=50)**	**Высокая ВН (n=100)**
АЛТ, Е/л	69,0 (44; 139)[1]	44,0 (30; 69)	40,5 (28; 79,5)	76,0 (42;104)[2]
АСТ, Е/л	38,0 (31; 57)[1]	31,0 (25; 39)	33,0 (25; 47,5)	44,5 (37; 68)[2]
Билирубин общ, мкмоль/л	11,8 (7,7; 16)[1]	8,3 (6; 14,7)	7,8 (7,1; 11,2)	9,7 (7,7; 13,9)[2]
Билирубин пр., мкмоль/л	4,1 (3; 6)[1]	3,3 (2,4; 4,2)	2,8 (2,4; 4,2)	3,9 (3,1; 5,5)[2]
ЩФ, Е/л	67,0 (52; 82,5)	62,0 (50;73,5)	62,0(53; 79)	62,5 (50; 73,5)
ГГТП, Е/л	33,0 (24; 47)[1]	24,0 (16; 36)	29,5 (19; 38)	31,0 (22; 56)
Общ. белок, г/л	73,5 (70; 80)	74,0 (72; 79)	73,0 (71; 79)	74,0 (70; 78,5)
Альбумин, г/л	47,2(43,8; 49)	48,5(44; 49,2)	48,2(45; 49,2)	48,5(45; 49,6)
Тимоловая проба, Ед S-H	6,9 (4,2; 9,2)	5,6 (4,6; 9,9)	6,3 (4,3; 10,8)	6,5 (4,7; 9,4)
Тромбоциты,	236 (196; 285)[1]	280(213;326)	272 (196; 303)	254 (217; 310)

*10^9/л				

Примечание: [1] – различия достоверны в группе с HCV-1 в сравнении с HCV-2,3;
[2] – различия достоверны в группе с высокой ВН в сравнении с низкой вирусемией.

У пациентов с ХГ при отсутствии фиброза (F0) и умеренным фиброзом (F1–2) получены достоверные различия для альбумина (p=0,01) и количества тромбоцитов (p=0,01). У больных с выраженным фиброзом (F3) отмечено более значительное повышение уровней цитолитических ферментов АЛТ и АСТ (p=0,03 и p=0,02, соответственно), концентрации общего билирубина (p=0,04), повышение значений ЩФ (p=0,03), снижение уровня альбумина (p=0,009) и количества тромбоцитов (p=0,002) в сравнении со стадиями F1-2. У пациентов с ЦП в исходе ХГ зарегистрированы достоверно повышенные значения ГГТП в сравнении с тяжелым фиброзом (F3) (p=0,01) (табл. 9).

Таблица 9

Биохимические показатели и количество тромбоцитов в зависимости от стадии фиброза при ХГ и в группе с АЦП, Me (25; 75)

Показатели	**F0 (n=57)**	**F1-2 (n=60)**	**F3 (n=10)**	**F4 (n=23)**	**АЦП (n=20)**
АЛТ, Е/л	51(37; 92)	54,0 (27; 79)	64,5(51; 159)[2]	87,5(44;132)	27(23;45)[4]
АСТ, Е/л	33(26; 42)	33,0 (26; 51)	57,0(38; 81)[2]	76(42; 108)	52(29; 81)
Билируб.общ мкмоль/л	10,8 (6,6;16)	9,7 (7,5; 15,3)	13,5 (10,3;19)[2]	13,4 (9,1; 25)	38,0 (15,7; 50)[4]
Билир. пр., мкмоль/л	4,1 (2,4; 6)	3,6 (2,6; 5,3)	4,1 (3,8; 4,7)	5,7 (3,7; 9,5)	27,5 (9,9; 53)[4]
ЩФ, Е/л	60,0 (51; 73)	65,0 (52; 81)	142,0 (61; 220)[2]	89,0 (77; 92)	162,0 (91; 204)[4]
ГГТП, Е/л	27,5 (20; 60,5)	26,3 (17; 42,5)	24,0 (17; 34,7)	65,0 (51; 103)[3]	175,7 (77,5;300)[4]
Общий белок, г/л	74(70;79)	75,0 (72; 80)	71(70;78)	76(70;80)	62(55;74)[4]
Альбумин, г/л	49,8 (48; 49,3)	47,5 (46; 47,1)[1]	39,8 (38; 43)[2]	38,5 (36,8; 42,7)	32,6 (28,5;35,1)[4]
Тимол. пр, Ед S-H	6,0 (4,6;9,4)	7,4 (4,6; 9,9)	8,3 (5,4; 11,2)	9,4(5,6;11,8)	5,65[4] (4,5;6,4)
Тромбоциты *10^9/л	304,0 (246; 312)	240,0 (196; 300)[1]	166,0 (135; 199,5)[2]	162,0 (134; 192)	113,5 (84; 139)[4]

Примечание: [1] – различия достоверны в группе с F1-2 в сравнении с F0;

[2] – различия достоверны в группе с F3 в сравнении с F1-2;

[3] – различия достоверны в группе с F3 в сравнении с F4;

[4] - различия достоверны в группе с АЦП в сравнении с F4 при ХГ.

У пациентов с АЦП практически все биохимические тесты были значимо изменены (табл. 9). Значимое повышение активности ГГТП, сопровождающее холестаз и цитолиз гепатоцитов, в сочетании с гипербилирубинемией за счет конъюгированного билирубина и увеличение активности ЩФ подтверждает синдром холестаза. Снижение общего белка, альбумина и повышение тимоловой пробы у больных АЦП свидетельствует о снижении белковосинтетической функции печени, указывает на диспротеинемию и подтверждает синдром мезенхимального воспаления. Низкие значения количества тромбоцитов подтверждают синдром печеночно-клеточной недостаточности при АЦП. Также были зарегистрированы значительные изменения функциональных проб печени: выраженные признаки холестаза по данным общего ($p=0,001$) и прямого билирубина ($p=0,001$), ГГТП ($p=0,01$) и ЩФ ($p=0,02$), нарушения белковосинтетической функции печени по уровню общего белка ($p=0,01$) и гипоальбуминемии ($p=0,002$), более выраженная тромбоцитопения ($p=0,02$) в сравнении с ЦП в исходе ХГ. При этом, синдром цитолиза по данным АЛТ преобладал у лиц с ЦП вирусного генеза ($p= 0,01$), что, по-видимому обусловлено репликативной активностью HCV.

При корреляционном анализе в группе с ХГ обнаружены достоверные взаимосвязи АЛТ с уровнем вирусемии ($p=0,01$), ГГТП с ГК ($p=0,03$), АФП ($p=0,03$) и ВН ($p=0,03$), обратная взаимосвязь количества тромбоцитов с концентрацией ГК ($p=0,001$). При этом, альбумин и тромбоциты имели сильную обратную корреляцию со значениями плотности печени по данным УЗЭ ($p<0,001$ и $p<0,001$, соответственно). Интересно, что возраст пациентов с ХГС прямо коррелировал с уровнем ГГТП ($p=0,04$) и имел обратные взаимосвязи с концентрацией альбумина ($p<0,001$) и количеством тромбоцитов ($p=0,01$). По-видимому, с возрастом при ХГ риск развития холестаза, снижения уровня

альбумина и количества тромбоцитов возрастает. Данные о взаимосвязях вышеупомянутых параметров представлены в таблице 10.

Таблица 10

Взаимосвязь биохимических показателей с вирусемией, ГК, АФП и плотностью печени при ХГ

Показатели	**r**	**p**
АЛТ и ВН	0,51	0,01
ГГТП и возраст	0,28	0,04
ГГТП и ВН	0,41	0,03
ГГТП и ГК	0,45	0,03
ГГТП и АФП	0,39	0,03
Общий белок и ВН	0,35	0,04
Альбумин и возраст	-0,38	<0,001
Альбумин и плотность печени по УЗЭ	-0,79	<0,001
Тимоловая проба и ГК	0,45	0,03
Тромбоциты и возраст	-0,22	0,02
Тромбоциты и плотность печени по УЗЭ	-0,78	<0,001
Тромбоциты и ГК	-0,55	0,001

Примечание: r – коэффициент корреляции; p – значимость корреляции.

В группе с АЦП показатель фиброза ГК прямо коррелировала с маркером холестаза ГГТП (r=0,53; p=0,01) и обратно – с альбумином (r =-0,51; p=0,01) и тромбоцитами (r=-0,56; p=0,001).

На основании вышеизложенного можно полагать, что существует ассоциация выраженности синдромов цитолиза и холестаза при ХГ с мужским полом, HCV-1 и репликативной активностью вируса. Уровень альбумина и количество тромбоцитов отражают процессы прогрессирования фиброза в цирроз, независимо от этиологического фактора, что подтверждается их корреляциями с параметрами фиброза.

3.3. Маркеры перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы в зависимости от тяжести поражения печени

У больных ХГ наблюдалась активация ПОЛ, что проявлялось в достоверном увеличении сывороточной концентрации МДА в 85% случаев в 4,5 раза по сравнению с группой контроля ($p<0,001$). При исследовании антиоксидантных ферментов выявлено снижение активности каталазы у 85% лиц в среднем в 2,5 раза ($p<0,001$) и ГЛП почти в 3 раза ($p<0,001$) у 89% пациентов в сравнении с группой здоровых, что может свидетельствовать об истощении выработки этих ферментов при ХГ. Соотношение средних показателей каталазы и МДА в группе контроля составило 13,6, у больных – 1,2. Соотношение ГЛП и МДА у практически здоровых лиц равнялось 1,2, у исследуемых пациентов– 0,9. Эти результаты свидетельствуют о нарушении адекватной функции АОС при ХГ (табл. 11). При этом, достоверных различий вышеуказанных параметров у мужчин и женщин не выявлено.

Таблица 11

Значения МДА, каталазы и ГЛП у больных ХГ и в группе контроля, Me (25; 75)

Показатели	**Гр. контроля (n=100)**	**ХГ (n=150)**	**Мужчины (n=74)**	**Женщины (n=76)**
МДА, мкмоль/л	1,9 (1,35; 2,9)	8,6(4,9;11,8)[1]	7,9 (5,1; 11,8)	8,6(4,5; 11,7)
Каталаза,мкат/л	25,8(22,3;29,5)	10,6(5,5;14,7)[1]	10,2(5,2; 14,6)	11,3(6,7; 15)
ГЛП, мкмоль/л	23,4(20,1;28,5)	8,0 (4,7;12,4)[1]	8,6 (5,1; 12)	8,0(4,7; 12,4)
Каталаза/МДА	13,6	1,2	1,3	1,3
ГЛП/МДА	12,3	0,9	1,1	0,9

Примечание: [1] – различия достоверны в группе с ХГ в сравнении с контролем.

Таким образом, ХГ в стадии реактивации характеризуется усилением процессов пероксидации липидов и повышением уровня МДА при истощении механизмов антиоксидантной защиты со снижением выработки ферментов каталазы и ГЛП.

При исследовании параметров АОС в зависимости от генотипа вируса значимых различий значений МДА и каталазы не найдено ($p=0,98$ и $p=0,2$, соответственно). При этом, у больных с генотипом HCV-1 выявлены более низкие

концентрации фермента ГЛП в сыворотке крови, чем у пациентов с HCV-2 и HCV-3 (p=0,04) (табл. 12).

Таблица 12

Значения МДА, каталазы и ГЛП в подгруппах с HCV-1 и HCV-2, HCV-3 и в зависимости от вирусемии, Me (25; 75)

Показатели	**HCV-1 (n=74)**	**HCV-2,HCV- 3 (n=76)**	**Низкая ВН (n=50)**	**Высокая ВН (n=100)**
МДА, мкмоль/л	8,6 (6,3; 11)	9,5 (4,9; 12,5)	8,9 (6,1; 12,9)	7,7 (4,9; 11,8)
Каталаза,мкат/л	8,8 (5,3; 14,3)	11,5(7,8; 14,7)	12,6(9,7;14,9)	8,2(5,3; 10,2)[2]
ГЛП, мкмоль/л	7,3(4,7;10,6)[1]	9,8 (5,9; 13,5)	8,2 (4,7; 11,1)	9,2 (4,8; 13,5)

Примечание: [1] – различия достоверны в группе с HCV-1 в сравнении с HCV-2,3; [2] – различия достоверны в группе с высокой вирусемией в сравнении с низкой.

При оценке влияния уровня ВН на активность МДА и ГЛП достоверных различий не найдено. Однако, у больных с высокой вирусемией выявлена более низкая активность фермента каталазы в сравнении с пациентами с низкой ВН (p=0,04) (см. табл. 12). То есть, нарастание уровня вирусемии сопровождается снижением активности каталазы.

При анализе активности МДА, каталазы и ГЛП у больных ХГ в зависимости от наличия цитолитического синдрома достоверные различия получены для фермента каталазы: у пациентов с повышенным уровнем АЛТ (медиана – 93,5 Е/л) была выявлена более низкая активность каталазы в сыворотке крови, чем у больных со значениями АЛТ, соответствующими нормальным концентрациям (медиана – 33,0 Е/л) (p=0,04) (табл. 13).

Таблица 13

МДА, каталазы и ГЛП в зависимости от наличия синдрома цитолиза, Me (25; 75)

Показатели	**Больные ХГ без ферментемии (n=50)**	**Больные ХГ с синдромом цитолиза (n=100)**	**p**
МДА, мкмоль/л	8,4 (5,1; 12,8)	8,3 (4,9; 11,2)	0,53
Каталаза,мкат/л	13,7 (6,7; 16,2)	9,6 (5,5; 13,7)	**0,04**
ГЛП, мкмоль/л	8,1 (4,7; 12,6)	8,0 (4,3; 11,7)	0,86

Примечание: p – достоверность различий.

Таким образом, по мере нарастания интенсивности цитолиза при ХГ снижается активность каталазы.

При оценке значений МДА в зависимости от выраженности ФП при ХГ значимые различия выявлены только для стадий F3 и F4 (p=0,02). То есть, переход фиброза в ЦП при ХГ характеризуется усилением процессов пероксидации липидов с повышением уровня МДА. Анализ ферментов АОС не показал достоверных различий при разной выраженности ФП, хотя все же имеется тенденция к снижению их активности по мере прогрессирования фиброза (табл. 14).

Таблица 14

Значения МДА, каталазы и ГЛП в зависимости от стадии фиброза в группе больных с ХГ и у пациентов с АЦП, Me (25; 75)

Стадии ФП при ХГ	**МДА, мкмоль/л**	**Каталаза,мкат/л**	**ГЛП, мкмоль/л**
F0 (n=57)	8,6 (5,7; 12,5)	12,0 (4,4; 15,4)	8,0 (4,9; 13,5)
F1-2 (n=60)	7,5 (4,6; 10,5)	10,6(6,7; 14,7)	9,1 (4,7; 12)
F3 (n=10)	6,8 (2,5; 11,2)	8,1 (5,1; 1,1)	8,0 (2,5; 13,5)
F4 (n=23)	10,1(6,1; 11,5)[1]	7,5 (4,7; 13,7)	6,0 (4,1; 13,7)
АЦП (n=20)	15,1 (13; 15,7)[2]	8,3 (5,4; 12,5)	6,3 (4,7; 11,8)

Примечание: [1] – различия достоверны в группе с F4 в сравнении с F3;

[2] - различия достоверны в группе с АЦП в сравнении с F4 при ХГ.

У пациентов с АЦП также имелись признаки активации процессов ПОЛ и истощение механизмов антиоксидантной защиты (см. табл. 14). При этом, выраженность активации процессов пероксидации липидов по уровню МДА была значимо больше, чем у пациентов с ЦП в исходе вирусного гепатита (p<0,001).

В группе с ХГ выявлены достоверные обратные взаимосвязи между активностью каталазы и трансаминазами, а также обратная взаимосвязь каталазы с уровнем вирусемии (p=0,03), что подтверждает факт снижения активности этого антиоксидантного фермента на фоне нарастания цитолиза гепатоцитов и усиления репликации вируса. Обратная корреляция фермента ГЛП с АФП (p=0,04)

свидетельствует о снижении активности этого фермента на фоне усиления процессов регенерации гепатоцитов при ХГ (табл. 15).

Таблица 15

Взаимосвязь МДА и антиоксидантных ферментов с биохимическими показателями, ГК и АФП в группе с ХГ и АЦП

Показатели в группе с ХГ	**r_1**	**p_1**	**Показатели в группе с АЦП**	**r_2**	**p_2**
Каталаза и АЛТ	-0,32	**0,04**	МДА и билирубин пр.	0,41	**0,04**
Каталаза и АСТ	-0,35	**0,03**	Каталаза и ГК	-0,55	**0,03**
Каталаза и ВН	-0,37	**0,03**	ГЛП и билирубин общ.	-0,63	**0,01**
ГЛП и АФП	-0,29	**0,04**	ГЛП и билирубин пр.	-0,68	**0,01**

Примечание: r – коэффициент корреляции; p - значимость корреляции.

Отсутствие взаимосвязей МДА с ферментами каталазой и ГЛП, возможно указывает на дисбаланс в регуляции системы антиоксидантной защиты на фоне активации процессов ПОЛ и развития окислительного стресса при ХЗП.

Таким образом, прогрессирование поражения печени взаимосвязано с усилением процессов пероксидации липидов и повышением уровня МДА, более зачимом при алкогольном генезе, при одновременном истощении механизмов антиоксидантной защиты со снижением выработки ферментов каталазы и ГЛП. При этом, активация процессов ПОЛ по уровню МДА имеет максимальную выраженность на стадии ЦП, как в исходе вирусного, так и алкогольного гепатита.

3.4. Взаимосвязь показателей обмена железа с фиброзом при заболеваниях печени

У больных ХГ показатели сывороточного железа и ОЖСС достоверно не отличались от группы контроля. Однако, у отдельных пациентов эти параметры были повышены. При этом, концентрация ферритина у 29% обследуемых пациентов в среднем в 5 раз превышала этот показатель в группе контроля (p=0,001). Вероятно, это свидетельствует о развитии вторичного гемосидероза на фоне воспаления при ХГ, вследствии нарушения обменных функций печени и

депонировании макрофагами железа. У мужчин концентрация ферритина была в 2 раза выше, чем в у женщин (p=0,04) (табл. 16).

Таблица 16

Значения параметров обмена железа у больных ХГ и в группе контроля, Me (25; 75)

Показатели	**Контроль (n=100)**	**ХГ (n=150)**	**Мужчины (n=74)**	**Женщины (n=76)**
Сывороточное железо,мкмоль/л	19,4(3,9; 22)	19,0(13,2;29,8)	22,8 (18; 28)	19,4(14,8;28)
ОЖСС,мкмоль/л	58,0 (49; 60)	58,5 (49; 70)	55,0 (49; 66)	56,0 (48; 68)
Ферритин, нг/мл	22,0 (11; 33)	107,9(31;250)[1]	122,9(38;362)[2]	58,8(29;182)

Примечание: [1] – различия достоверны в группе с ХГ в сравнении с контролем; [2] – различия достоверны у мужчин в сравнении с женщинами.

При исследовании маркеров метаболизма железа в зависимости от генотипа HCV и уровня вирусемии значимых различий не найдено (табл. 17).

Таблица 17

Значения параметров железа в подгруппах с HCV-1 и HCV-2,3, при высокой и низкой вирусемии, Me (25; 75)

Показатели	**HCV-1 (n=74)**	**HCV-2 и 3 (n=76)**	**Низкая ВН (n=50)**	**Высокая ВН (n=100)**
Сывороточное железо, мкмоль/л	20,3(15;25,6)	24,5 (17; 31)	15,0 (14,5; 18)	21,0 (20; 22)
ОЖСС, мкмоль/л	59,0 (45; 72)	62,0 (54; 67)	58,0 (50; 59)	45,0 (35; 48)
Ферритин, нг/мл	79,8 (29;235)	71,9 (40;412)	88,9 (31;250)	60,2(22;150,8)

Примечание: различия не достоверны.

У больных ХГ с активностью АЛТ, характерной для цитолиза (медиана – 93,5 Е/л), уровень ферритина был значимо выше, чем у пациентов с нормальными значениями АЛТ (медиана – 33,0 Е/л) (p=0,04) (табл. 18).

Таблица 18

Значения параметров метаболизма железа в зависимости от наличия синдрома цитолиза в группе пациентов с ХГ, Me (25; 75)

Показатели	**Больные ХГ без ферментемии (n=50)**	**Больные ХГ с синдромом цитолиза (n=100)**	**p**
Сывороточное железо, мкмоль/л	17,5 (15; 24,5)	21,8 (15; 27,1)	0,35
ОЖСС, мкмоль/л	59,0 (50; 68)	58,0 (49; 67,5)	0,89
Ферритин, нг/мл	62,8 (29; 182)	131,7 (40; 412)	**0,04**

Примечание: p – достоверность различий.

У пациентов с холестатическим синдромом (медиана активности ГГТП – 59 Е/л), сывороточные концентрации железа и ферритина были значимо выше, чем у больных с нормальной активностью ГГТП (медиана – 22 Е/л) (p=0,01 и p=0,01, соответственно) (табл. 19).

Таблица 19

Значения параметров обмена железа в зависимости от синдрома холестаза при ХГ, Me (25; 75)

Показатели	**Больные ХГ без холестаза (n=112)**	**Больные ХГ с холестазом (n=38)**	**p**
Сывороточное железо, мкмоль/л	20,0 (15; 24)	32,0 (23; 36,6)	**0,01**
ОЖСС, мкмоль/л	56,0 (48; 63)	58,0 (49; 75)	0,65
Ферритин, нг/мл	46,0 (29; 157)	313,1 (91; 495)	**0,01**

Примечание: p – достоверность различий.

То есть, по мере увеличения интенсивности цитолиза и холестаза при ХГ по-видимому происходит перераспределение железа в депо.

При оценке значений сывороточного железа в зависимости от выраженности ФП значимые различия выявлены для стадий умеренного (F1-2) и выраженного фиброза (F3) (p=0,04). Анализ содержания ОЖСС не показал достоверных различий при разной выраженности ФП. Концентрация ферритина при начальном и умеренном фиброзе (F1-2) достоверно нарастала в сравнении с

F0 (p=0,03), а также при переходе ХГ в ЦП была значимо выше, чем при стадии F3 (p=0,01), что свидетельствует о нарастании нарушений метаболизма железа по мере прогрессировании фиброза (табл. 20).

Таблица 20

Значения маркеров обмена железа в зависимости от стадии фиброза при ХГ и в группе с АЦП, Me (25; 75)

Стадии ФП при ХГ	**Железо сыв., мкмоль/л**	**ОЖСС, мкмоль/л**	**Ферритин, нг/мл**
F0 (n=57)	25,2 (14,8; 31)	54,0 (40; 66)	41,3 (29; 164)
F1-2 (n=60)	19,3 (14;21)	59,0 (49; 67)	82,7 (42; 235)[1]
F3 (n=10)	25,7 (23; 40)[2]	74,8 (72; 78)	85,6 (28; 462)
F4 (n=23)	22,0 (6,8; 24)	71,0 (58; 85)	233,0 (182; 235)[3]
АЦП (n=20)	19,4 (11,8; 28,6)	56,0 (50; 70)	325,8 (209; 401)[4]

Примечание: [1] – различия достоверны в группе с F1-2 в сравнении с F0;

[2] - различия достоверны в группе с F3 в сравнении с F1-2;

[3] – различия достоверны в группе с F4 в сравнении с F3;

[4] – различия достоверны в группе с АЦП в сравнении с F4 при ХГ.

У пациентов с АЦП показатели сывороточного железа и ОЖСС достоверно не отличались от группы контроля (p=0,66 и p=0,49, соответственно) и от стадии F4 при ХГ (p=0,67 и p=0,15, соответственно). При этом, концентрация ферритина при АЦП была значимо выше, чем у пациентов ЦП в исходе вирусного гепатита (p=0,01).

При корреляционном анализе выявлены достоверные прямые взаимосвязи концентрации ферритина с общим и прямым билирубином (p=0,003 и p=0,02, соответственно), АЛТ (p=0,02), АСТ (p=0,03) и плотностью печени (p=0,02), что подтверждает данные об увеличении нарушений обмена железа на фоне нарастания холестаза, цитолиза и фиброза гепатоцитов (табл. 21).

Таблица 21

Взаимосвязи параметров железа с биохимическими показателями и плотностью печени у больных ХГ

Показатели	**r**	**p**
Железо сыворотки и ОЖСС	-0,35	**0,03**
Железо сыворотки и ферритин	0,57	**<0,001**
Ферритин и АЛТ	0,31	**0,02**
Ферритин и АСТ	0,27	**0,03**
Ферритин и билирубин общий	0,41	**0,003**
Ферритин и билирубин прямой	0,33	**0,02**
Ферритин и плотность печени по УЗЭ	0,35	**0,02**

Примечание: r – коэффициент корреляции; p - значимость корреляции.

В группе с АЦП ферритин прямо коррелировал с АФП (r=0,61; p=0,02), МДА (r=0,55; p=0,03) и обратно – с активностью каталазы (r=-0,52; p=0,03) и ГЛП (r=-0,45; p=0,03), что свидетельствует об увеличении нарушений обмена железа на фоне усиления процессов регенерации, нарастания ПОЛ и истощения механизмов антиоксидантной защиты.

Таким образом, прогрессирование фиброза в цирроз при ХЗП взаимосвязано с нарушением обмена железа преимущественно в виде повышения концентрации ферритина.

3.5. Уровни сывороточных цитокинов в зависимости от тяжести фиброза печени

По результатам ИФА у больных ХГ было установлено повышение сывороточных концентраций ВЭФР в 74% случаев, провоспалительных цитокинов ФНО-α у 73% лиц и ИЛ-6 у 47% пациентов в сравнении с группой контроля (p<0,001, p=0,001 и p=0,01, соответственно). Достоверных различий значений Г-КСФ и ИЛ-17 у пациентов в сравнении со здоровыми не было получено (табл. 22). Однако, повышение сывороточной концентрации Г-КСФ было зарегистрировано у 24% больных, а уровень ИЛ-17 был повышен у 14% лиц

с ХГ, возможно за счет плеотропного действия цитокинов. Достоверных различий значений вышеуказанных факторов роста и цитокинов в зависимости от пола не было найдено (табл. 22).

Таблица 22

Уровни цитокинов у больных ХГ и в группе контроля, Me (25; 75)

Показатели	**Контроль (n=100)**	**ХГ (n=150)**	**Мужчины (n=74)**	**Женщины (n=76)**
ВЭФР, пг/мл	83,6 (23; 138)	352,7(212; 562)[1]	352,7(145; 603)	355(259; 551)
Г-КСФ, пг/мл	9,8(6,2; 15,3)	8,3(5,3; 15,7)	8,5(5,3; 15,3)	9,8(5,2; 16,5)
ФНО-α, пг/мл	0 (0; 0,9)	1,8 (1; 3,5)[1]	1,9 (1,1; 4,2)	1,7 (0,9; 3,1)
ИЛ-6, пг/мл	0 (0; 0,2)	0,8 (0; 4)[1]	0,9 (0; 4,7)	0,8 (0; 3,9)
ИЛ-17, пг/мл	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)

Примечание: [1] – различия достоверны в группе больных ХГ в сравнении с контролем.

В группе больных с высокой ВН (медиана – $5,65 \times 10^6$ копий/мл) зарегистрированы достоверно повышенные значения ФНО-α, чем при низкой вирусемии (медиана – $0,92 \times 10^6$ копий/мл) (p=0,04), что свидетельствует об ассоциации гиперпродукции этого цитокина с повышенной репликативной активностью вируса (табл. 23).

Таблица 23

Значения факторов роста и цитокинов в подгруппах ХГ с HCV-1 и HCV-2, HCV-3, при высокой и низкой вирусемии, Me (25; 75)

Показатели	**HCV-1 (n=74)**	**HCV-2,HCV-3 (n=76)**	**Низкая ВН (n=50)**	**Высокая ВН (n=100)**
ВЭФР, пг/мл	384,5 (276;561)	340,5(195; 544)	357,8(219;506)	377,6(229;576)
Г-КСФ, пг/мл	9,7 (5,6; 15,8)	7,8 (4,9; 14,4)	9,6 (5,5; 15)	8,5 (5,8; 13,8)
ФНО-α, пг/мл	1,7 (1; 2,8)	1,7 (1; 3,5)	1,65 (1; 2,2)	1,95 (1,5; 3,3)[1]
ИЛ-6, пг/мл	0,75 (0; 3,6)	0,7 (0; 3,2)	0,65 (0; 3,25)	0,7 (0; 3,9)

Примечание:[1]- различия достоверны в группе с высокой ВН в сравнении с низкой.

У больных с цитолитическим синдромом (медиана АЛТ – 93,5 Е/л) сывороточные концентрации Г-КСФ, ФНО-α и ИЛ-6 были значимо выше, чем у

лиц с нормальными значениями АЛТ (медиана – 33,0 Е/л) (p=0,03, p=0,001 и p=0,001, соответственно), что указывает на наличие зависимости биологических эффектов провоспалительных цитокинов от уровня ферментемии (табл. 24).

Таблица 24

Значения факторов роста и цитокинов в зависимости от наличия синдрома цитолиза при ХГ, Me (25; 75)

Показатели	**Больные ХГ без ферментемии (n=50)**	**Больные ХГ с синдромом цитолиза (n=100)**	**p**
ВЭФР, пг/мл	370,8 (253; 560)	377,6 (270; 630)	0,61
Г-КСФ, пг/мл	6,8 (4,9; 15,5)	11,05 (5,5; 20,5)	**0,03**
ФНО-α, пг/мл	1,7 (1; 2,9)	2,6 (1;5; 8,5)	**0,001**
ИЛ-6, пг/мл	0,6 (0; 2,1)	5,1 (2; 13,5)	**0,001**

Примечание: p – достоверность различий.

Таким образом, повышение концентрация Г-КСФ и провоспалительных цитокинов ФНО-α и ИЛ-6 при ХГ ассоциированы с активностью трансаминаз. Хотя, следует отметить, что подъем уровня данных цитокинов, хотя и в меньшей степени, наблюдался также на фоне нормальных значений АЛТ, свидетельствуя о том, что Г-КСФ, ФНО-α и ИЛ-6 являются ранними маркерами повреждения печени.

Таблица 25

Значения факторов роста и цитокинов в зависимости от наличия синдрома холестаза при ХГ, Me (25; 75)

Показатели	**Больные ХГ без холестаза (n=112)**	**Больные ХГ с холестазом (n=38)**	**p**
ВЭФР, пг/мл	364 (269; 560)	367 (124; 638)	0,54
Г-КСФ, пг/мл	7,8 (4,8; 15,3)	8,2 (5,5; 13,5)	0,85
ФНО-α, пг/мл	1,6 (0,9; 2,8)	2,1 (1; 4,2)	0,15
ИЛ-6, пг/мл	0,3 (0; 1,8)	1,1 (0; 5,3)	**0,04**

Примечание: p – достоверность различий.

При анализе значений исследуемых цитокинов в зависимости от наличия холестатического синдрома, отмечены значимо повышенные сывороточные

концентрации ИЛ-6 у больных с синдромом холестаза (медиана ГГТП – 59 Е/л) (p=0,04) (см. табл. 25).

С целью понимания роли цитокинов в процессах фиброгенеза в печени были изучены их сывороточные уровни в зависимости от выраженности фиброза. Из таблицы 26 видно, что концентрация исследуемых факторов в сыворотке крови больных ХГ по большей части повышалась по мере прогрессирования ФП. Так, уровень ВЭФР у пациентов с выраженным фиброзом (F3) был значимо выше, чем при стадиях F1-2 (p=0,01), а также имел достоверные различия у больных с F0 умеренного фиброза (p=0,03). Концентрация Г-КСФ в сыворотке крови больных значимо повышалась на стадиях тяжелого фиброза F3 (p=0,01) и F4 (p=0,03). Провоспалительные цитокины ФНО-α и ИЛ-6 также значимо увеличивались по мере прогрессирования ФП.

Таблица 26

Значения цитокинов в зависимости от стадии фиброза при ХГ и в группе с АЦП, Me (25; 75)

Стадии ФП при ХГ	**ВЭФР, пг/мл**	**Г-КСФ, пг/мл**	**ФНО-α, пг/мл**	**ИЛ-6, пг/мл**
F0 (n=57)	367,7 (161;432)	6 (4,4;12,8)	1,5 (1;2)	0 (0;0,9)
F1-2 (n=60)	447 (276;653)[1]	6,95 (4,8;16,2)	2,5 (1,5;3)[1]	0,7 (0;2)[1]
F3 (n=10)	643 (559;727)[2]	14,5 (12;14,8)[2]	7,8 (3,8;11,5)[2]	2,3 (0;4,6)
F4 (n=23)	570 (527;689)	17,8 (13;26,5)[3]	8,6 (4;19,7)	22 (3;64,1)[3]
АЦП (n=20)	519,9 (429;645)	16,2 (9,9;39,1)	6,5 (3,2;9,1)	29,6(23;93,8)[4]

Примечание: [1] – различия достоверны в группе с F1 - 2 в сравнении с F0;

[2] – различия достоверны в группе с F3 в сравнении с F1–2;

[3] – различия достоверны в группе с F4 в сравнении с F3;

[4] - различия достоверны в группе с АБП в сравнении с F4 при ХГ.

У пациентов с АЦП провоспалительные цитокины ФНО-α и ИЛ-6 были повышены в 100 % случаев, ВЭФР и Г-КСФ - у 70% лиц. Уровни ВЭФР, Г-КСФ и ФНО-α у лиц с АЦП не имели достоверных отличий от показателей при ЦП в исходе ХГС (p=0,33; p=0,17 и p=0,36, соответственно). При этом, медиана

концентрации ИЛ-6 у лиц с ЦП алкогольной этиологии в 4,5 раза была выше, чем при ЦП в исходе вирусного гепатита (p<0,001).

Таким образом, прогрессирование фиброза при ХЗП ассоциировано с гиперпродукцией факторов роста ВЭФР и Г-КСФ и провоспалительных цитокинов ФНО-α и ИЛ-6. Это подтверждается прямыми корреляциями ВЭФР, Г-КСФ, ФНО-α и ИЛ-6 с плотностью печени по УЗЭ (p=0,001, p=0,01, p<0,001 и p=0,001, соответственно), взаимосвязями ФНО-α и ИЛ-6 с АЛТ (p=0,02 и p=0,004, соответственно), ИЛ-6 с ГГТП (p=0,01) и ФНО-α с ВН (p=0,01) (табл. 27). Прямая корреляционная связь ИЛ-6 с ферритином (p=0,03) свидетельствует об увеличении выраженности нарушений обмена железа на фоне нарастания воспаления. Характер и выраженность корреляционных взаимоотношений представлены в таблице 7.

Таблица 27

Взаимосвязи цитокинов в группах с ХГ и АЦП

Показатели при ХГ	**r_1**	**p_1**	**Показатели при АЦП**	**r_2**	**p_2**
ВЭФР и плотность печени	0,37	**0,001**			
Г-КСФ и ФНО-α	0,23	**0,03**	ВЭФР и общий белок	-0,7	**0,004**
Г-КСФ и ИЛ-6	0,25	**0,02**	ВЭФР и альбумин	-0,52	**0,04**
Г-КСФ и плотность печени	0,41	**0,01**	ВЭФР и ГК	0,94	**<0,001**
ФНО-α и АЛТ	0,21	**0,03**	ВЭФР и АФП	0,74	**0,005**
ФНО-α и тромбоциты	-0,27	**0,01**	ВЭФР и Г-КСФ	0,53	**0,03**
ФНО-α и альбумин	-0,39	**0,01**	ВЭФР и ФНО-α	0,64	**0,01**
ФНО-α и ВН	0,29	**0,01**	ВЭФР и ИЛ-6	0,57	**0,02**
ФНО-α и плотность печени	0,71	**<0,001**	Г-КСФ и ГК	0,55	**0,03**
ФНО-α и ИЛ-6	0,44	**<0,001**	Г-КСФ и ФНО-α	0,53	**0,03**
ИЛ-6 и АЛТ	0,26	**0,004**	ФНО-α и альбумин	-0,63	**0,01**
ИЛ-6 и ЩФ	0,28	**0,003**	ФНО-α и ИЛ-6	0,63	**0,01**
ИЛ-6 и ГГТП	0,23	**0,01**	ФНО-α и ГК	0,63	**0,01**

ИЛ-6 и альбумин	-0,34	**<0,001**	ИЛ-6 и ЩФ	0,64	**0,01**
ИЛ-6 и тромбоциты	-0,25	**0,01**	ИЛ-6 и общий белок	-0,81	**<0,001**
ИЛ-6 и плотность печени	0,39	**0,001**	ИЛ-6 и альбумин	-0,84	**<0,001**
ИЛ-6 и АФП	0,27	**0,01**	ИЛ-6 и ГК	0,59	**0,02**
ИЛ-6 и ферритин	0,32	**0,03**			

Примечание: r – коэффициент корреляции; p - значимость корреляции.

Развитие ЦП в исходе алкогольного гепатита также ассоциировано с гиперпродукцией факторов роста ВЭФР и Г-КСФ и провоспалительных цитокинов ФНО-α и ИЛ-6, что подтверждается прямыми корреляциями ВЭФР, Г-КСФ, ФНО-α и ИЛ-6 с ГК (p=0,004, p=0,03, p=0,01 и p=0,02, соответственно) (см. табл. 27).

Таким образом, нарушение структуры печени с развитием в ней цитолитических, холестатических, фибротических и цирротических изменений, а также активация перестройки сосудистой архитектоники связано с уровнем продукции ВЭФР, Г-КСФ и провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ФНО-α. Полученные данные позволяют полагать, что повышение системного уровня ВЭФР, Г-КСФ, ФНО-α и ИЛ-6 способствует усугублению прогрессирующего характера воспаления и фиброза, приводит к развитию цирроза, а их сывороточная концентрация отражает степень повреждения ткани печени. В пользу данного утверждения свидетельствуют выявленные корреляции изучаемых цитокинов с маркерами цитолиза, холестаза. мезенхимально-воспалительного синдрома, печеночно-клеточной недостаточности и фиброза в печени.

3.6. Взаимосвязь метаболических показателей со степенью поражения печени

В группе больных ХГ средние показатели ИМТ не имели достоверных отличий от группы контроля (p=0,86), хотя у 12% обследованных отмечалось небольшое превышение нормального ИМТ. Метаболические показатели у

пациентов с ХГ находились преимущественно в переделах референтных значений (табл. 28).

Таблица 28

Значения метаболических маркеров у больных ХГ и в группе контроля, Me (25; 75)

Показатели	**Контроль (n=100)**	**ХГ (n=150)**	**Мужчины (n=74)**	**Женщины (n=76)**
ИМТ (кг/м^2)	23,2(21,2;26,8)	23,0(20; 27)	23,0 (22; 26)	24,0 (20; 28)
Глюкоза, ммоль/л	4,77 (4,3; 5,3)	4,5 (3,8; 5,4)	5,46(4,8; 5,7)	4,95(4,1;5,45)
ХС, ммоль/л	4,6 (4,09; 5,2)	4,5 (3,9; 5,1)	4,05(3,5; 4,5)	4,5(3,9;5,3)[2]
ТГ, ммоль/л	0,77(0,68;0,92)	1,1 (0,8; 1,1)[1]	1,24(0,8; 1,5)	1,1 (0,81; 1,6)
ЛПВП, ммоль/л	1,57 (1,45; 1,8)	1,3 (1,1; 1,8)	1,1(0,99; 1,3)	1,6(1,25;1,8)[2]
ЛПНП, ммоль/л	2,81 (2,2; 3,1)	2,5 (2,1; 2,9)	2,4 (2; 2,8)	2,5 (2,1; 2,9)
ЛПОНП, ммоль/л	0,36(0,32;0,41)	0,5 (0,4; 0,7)[1]	0,56(0,4; 0,7)	0,48(0,36;0,7)
ИА	1,75 (1,5; 1,96)	2,5 (1,9; 2,9)[1]	2,6 (2; 3,2)	2,45 (1,8; 2,9)
Инсулин,мкМЕ/мл	6,8 (5,8; 7,8)	7,8 (5,8; 11)[1]	8,1(6,2; 10,6)	7,8 (5,8; 10,6)
HOMA-IR	1,52 (1,4; 1,6)	1,93 (1,2; 3)[1]	2,8 (1,44; 11)	2 (1,5; 6,0)
С-пептид,нг/мл	1,1 (1; 2,07)	2,6 (1,9; 3,7)[1]	2,7(1,4; 4,36)	2,9 (2,1; 4,7)
Лептин, нг/мл	1,5 (0,8; 2,2)	3,2 (2; 5,2)[1]	2,45(1,9; 3,6)	5,2 (3,2; 7,0)[2]

Примечание: [1] – различия достоверны в группе с ХГ в сравнении с контролем;
[2] – различия достоверны у женщин в сравнении с мужчинами.

Однако, у 20% пациентов наблюдалось статистически достоверно повышение уровня ТГ относительно группы контроля (p=0,002). Схожая тенденция отмечена при анализе содержания ЛПОНП, уровень которых у 36% лиц был значимо выше аналогичных параметров контрольной группы (p=0,02). На фоне этого, содержание ХС, ЛПВП и ЛПНП у пациентов с ХГ было сопоставимо с параметрами контрольной группы. Таким образом, в среднем у трети больных ХГ были диагностированы нарушения параметров липидного спектра крови в виде повышения уровня ТГ, ЛПОНП и ИА, что свидетельствует о наличии атерогенного риска у данной категории лиц. Концентрация глюкозы не имела

достоверных отличий от группы контроля (p=0,18). У 36% пациентов было зарегистрировано повышение уровня инсулина (p=0,02), индекса HOMA-IR (p=0,02) и С-пептида (p=0,04). Лептин был увеличен в среднем в 2 раза у 13% больных ХГ (p=0,001), преимущественно у лиц с повышенным ИМТ.

У мужчин наблюдались более низкие концентрации ЛПВП (p<0,001), у женщин был значимо выше уровень ХС (p=0,001) и лептина (p=0,01). Остальные метаболические маркеры при ХГ не имели достоверных отличий по половому признаку (см. табл. 28).

При анализе метаболических тестов у пациентов с HCV-1 и HCV-2, HCV-3 в целом изменения в обеих подгруппах были сходными. Достоверные отличия демонстрировали уровень ХС и ЛПНП, которые были выше у пациентов с генотипом HCV-1 (p=0,01 и p=0,02, соответственно). А также можно отметить некоторую тенденцию к повышению концентрации инсулина у лиц, инфицированных HCV-1 (p=0,05) (табл. 29). Хотя большая часть клинической литературы сосредоточена на ассоциации стеатоза с генотипом HCV-3, вероятно течение ХГ обусловлено сочетанием индивидуальных особенностей хозяина и вирусных факторов, что определяет механизм стеатоза. При исследовании метаболических показателей в зависимости от выраженности вирусемии у пациентов с высокой ВН (медиана – $5,65^{\times}10^{6}$ копий/мл) регистрировались более высокие значения инсулина (p=0,008) и индекса HOMA-IR (p=0,04), чем у пациентов с низкой репликативной активностью вируса (медиана ВН – $0,92^{\times}10^{6}$ копий/мл), что свидетельствует о наличие влияния вирусного фактора на механизм развития стеатоза (табл. 29).

Таблица 29

Значения метаболических показателей в подгруппах ХГ с HCV-1 и HCV-2, HCV-3, при высокой и низкой вирусемии, Me (25; 75)

Показатели	**HCV-1 (n=74)**	**HCV-2 и 3 (n=76)**	**Низкая ВН (n=50)**	**Высокая ВН (n=100)**
ИМТ (кг/м2)	24 (21; 27)	24(21,5; 26,5)	22,5(20,5; 27)	23,6 (21; 26)
Глюкоза,ммоль/л	4,75(3,7;5,4)	5,1 (4,9; 5,5)	3,47(2,3; 2,86)	3,5 (3,3; 3,75)

ХС, ммоль/л	4,52(4,1;5,5)[1]	4,2 (3,4; 4,7)	4,45(3,9; 4,7)	4,47 (3,9; 5,3)
ТГ, ммоль/л	1,28(0,9;1,6)	1,1(0,8; 1,38)	0,98(0,8; 1,68)	1,26(0,8;1,56)
ЛПВП, ммоль/л	1,39(1,1; 1,8)	1,31(1,1; 1,6)	1,58 (1,1; 1,8)	1,3(1,1; 1,59)
ЛПНП, ммоль/л	2,55(2,3;3,1)[1]	2,45(1,9; 2,9)	2,65(2,2; 2,86)	2,51(2,1; 3,1)
ЛПОНП,ммоль/л	0,59(0,4; 0,8)	0,48 (0,4; 0,7)	0,44(0,3; 0,76)	0,57 (0,4; 0,7)
ИА	2,5(1,9; 3,0)	2,45(1,8; 2,9)	2,5 (1,8; 3,0)	2,4 (1,8; 2,9)
Инсулин,мкМЕ/мл	8,1 (6; 13)	7,8 (5,9; 9,8)	6,2 (5,1; 7,8)	8,1 (6,3; 13)[2]
HOMA-IR	2,6(1,5; 10,6)	2 (1,2; 4)	1,5 (1,2; 2,1)	2,9 (1,8; 13,9)[2]
С-пептид,нг/мл	3,4 (2,6; 4,7)	2,9 (1,7; 3,7)	2,6 (2,1; 2,65)	3,1 (1,9; 3,7)
Лептин, нг/мл	3,5(2,4; 5,25)	2,9 (1,6; 6,4)	3,1 (1,5; 6,1)	3,2 (2; 6,4)

Примечание: [1] – различия достоверны в группе с HCV-1 в сравнении с HCV-2, HCV-3; [2] – различия достоверны в группе с высокой ВН в сравнении с низкой.

Метаболические показатели в подгруппах лиц с нормальными (медиана АЛТ – 33,0 Е/л) и повышенными значениеми АЛТ (медиана – 93,5 Е/л) не показали значимых различий. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии взаимосвязи степени выраженности нарушений липидного и углеводного профиля со степенью цитолиза в печени при ХГ. Следует лишь отметить, что лица с ферментемией имели более низкие значения ЛПВП (p=0,01), чем пациенты с нормальным уровнем трансаминаз, что сочеталось с увеличением ИМТ (p=0,02) (табл. 30).

Таблица 30

Значения метаболических тестов в зависимости от наличия синдрома цитолиза при ХГ, Me (25; 75)

Показатели	**Больные ХГ без ферментемии (n=50)**	**Больные ХГ с синдромом цитолиза (n=100)**	**p**
ИМТ (кг/м2)	22 (20; 26)	25 (22; 28)	**0,02**
Глюкоза,ммоль/л	5,1 (4,5; 5,6)	5,1 (4,1; 5,7)	0,71
ХС, ммоль/л	4,5 (4,1; 5)	4,1 (3,6; 4,9)	0,06
ТГ, ммоль/л	1,03 (0,85; 1,52)	1,2 (0,87; 1,56)	0,33
ЛПВП, ммоль/л	1,5 (1,16; 1,76)	1,17 (0,99; 1,55)	**0,01**

ЛПНП, ммоль/л	2,57 (2,3; 2,86)	2,47 (2; 2,97)	0,31
ЛПОНП,ммоль/л	0,47 (0,39; 0,69)	0,56 (0,39; 0,31)	0,38
ИА	2,4 (1,6; 2,9)	2,5 (1,8; 2,9)	0,24
Инсулин,мкМЕ/мл	8,4 (6; 12)	7,1 (5,6; 8,4)	0,25
HOMA-IR	2,3 (1,5; 10,2)	2,16 (1,2; 7,9)	0,79
С-пептид,нг/мл	3,17 (2,1; 4,7)	2,65 (1,9; 3,87)	0,54
Лептин, нг/мл	3,4 (2,4; 7)	2,4 (1,6; 5,3)	0,28

Примечание: р – достоверность различий.

При сравнительном анализе метаболических параметров у пациентов в зависимости от выраженности фиброза при наличии изменений, соответствующих ЦП в исходе ХГ регистрировались значимо более низкие концентрации ХС (р=0,03) и глюкозы (р=0,03), повышенные значения инсулина (р=0,01), лептина (р=0,04) и уровня С-пептида (р=0,04) (табл. 31).

Таблица 31

Значения метаболических показателей при ХГ в зависимости от стадии фиброза и у пациентов с АЦП, Me (25; 75)

Показатели	**F0 (n=57)**	**F1-2 (n=60)**	**F3 (n = 10)**	**F4 (n= 23)**	**АЦП(n=20)**
ИМТ (кг/м2)	24 (22; 26)	22 (20,5;26,5)	30,5 (24; 33)[2]	27,8 (25; 29)	22,3 (22; 24)[4]
Глюкоза, ммоль/л	5,36 (4,7; 6,1)	4,69 (3,4;5,3)[1]	5,1 (5; 5,4)	4,16 (4,1; 4,5)[3]	4,2 (4,12; 4,4)
ХС, ммоль/л	4,16 (3,9; 4,7)	4,49 (3,9; 4,98)	4,47 (4,2; 4,8)	3,53 (2,8; 4,2)[3]	3,7 (3,3; 4,2)
ТГ, ммоль/л	1,32 (0,98; 1,6)	1,16 (0,84; 1,5)	0,84 (0,7; 1,4)	0,89 (0,6; 1,3)	1,0 (0,8; 1,49)
ЛПВП, ммоль/л	1,29 (1; 1,64)	1,32 (1,1; 1,76)	1,52 (1; 2,1)	1,05 (0,8; 1,3)	1,06 (0,74; 1,2)
ЛПНП, ммоль/л	2,62 (2; 2,86)	2,54 (2,2; 3)	2,52 (2,1; 2,6)	2,15 (1,5;2,8)	2,3 (1,8; 2,8)
ЛПОНП, ммоль/л	0,6 (0,45; 0,69)	0,55 (0,4; 0,74)	0,38 (0,3;0,6)	0,4 (0,29; 0,6)	0,5 (0,39; 0,72)
ИА	2,5 (1,7; 3,0)	2,35(1,7;2,8)	2,5(1,9;3,1)	2,4 (1,8; 2,9)	2,7(1,8; 3,5)
Инсулин, мкМЕ/мл	8,1 (5,1; 11,2)	7,8 (6,1; 9,2)	7,8 (7,5; 8,1)	13 (8,1; 13,3)[3]	7,9 (5,9; 8,9)[4]
HOMA-IR	3,1 (1,8; 15,2)	2,06 (1,4;10,4)	1,5 (1,4; 1,6)	2,6 (1,44; 2,8)	2,2 (1,5; 2,8)

С-пептид, нг/мл	3,1 (1,4; 3,7)	3,3 (2,2; 5,05)	2,65 (2,6;3,6)	5,3 (3,7; 6,2)[3]	2,5 (1,1; 3,3)[4]
Лептин, нг/мл	2,75 (1,5; 6,5)	3,4 (2,2; 5,5)	3,5 (2,3; 5,6)	5,6 (4,3; 10,9)[3]	2,8 (1,6; 5,1)[4]

Примечание: [1] – различия достоверны в группе с F1-2 в сравнении с F0; [2] – различия достоверны в группе с F3 в сравнении с F1-2; [3] – различия достоверны в группе с F4 в сравнении с F3; [4] - различия достоверны в группе с АЦП в сравнении с F4 при ХГ.

Таким образом, прогрессирование фиброза при ХГ ведет к увеличение выраженности метаболических нарушений: снижается синтез холестерина, повышается уровень инсулина и С-пептида за счет снижения депонирования инсулина в печени, что говорит в пользу «вирус-индуцированного» механизма этих нарушений.

В группе больных с АЦП средние показатели ИМТ не имели достоверных отличий от группы контроля (p=0,56). У большей части больных в сравнении с группой контроля была диагностирована гипогликемия (p=0,01) и нарушения параметров липидного спектра крови в виде снижения уровня ХС (p=0,03) и ЛПВП (p<0,001), повышения концентрации ТГ (p=0,01) и ИА (p=0,001). Метаболические нарушения у пациентов с поражением печени алкогольного и вирусного генеза были в основном сходными (см. табл. 31). Различия были выявлены только по ИМТ, уровню инсулина, С-пептида и лептина, значения которых у больных при переходе ХГС в цирроз были значимо выше, чем у пациентов с АЦП, что возможно объясняется «вирус-индуцированным» механизмом.

Корреляционный анализ выявил при ХГ многочисленные достоверные взаимосвязи метаболических показателей с биохимическими параметрами, тестами ПОЛ и антиоксидантными ферментами, цитокинами и плотностью печени по данными УЗЭ. В частности, ИМТ коррелировал с возрастом, АЛТ, ГГТП, ЩФ, ГЛП, ИЛ-6 и плотностью печени. Триглицериды демонстрировали прямые взаимосвязи с возрастом, ХС, ЛПНП, и обратную - с ЛПВП, которые в свою очередь обратно коррелировали с маркерами цитолиза, холестаза,

инсулинрезистентностью, ИЛ-6, АФП и ГК. Уровень лептина демонстрировал достоверные взаимосвязи с ЛПНП, С-пептидом, МДА, ИЛ-6 и АФП, а инсулин – с показателем инсулинорезистентности, что свидетельствует о системности метаболических сдвигов при ХГ. Показатель инсулинорезистентности и инсулин положительно коррелировали с уровнем вирусемии, что указывает на усугубление метаболических нарушений в фазе реактивации ХГ и косвенно подтверждает вторичный характер этих нарушений (табл. 32).

Таблица 32

Взаимосвязи метаболических параметров с биохимическими показателями, маркерами фиброза, антиоксидантными ферментами и цитокинами при ХГ

Показатели	**r**	**p**	**Показатели**	**R**	**p**
ИМТ и возраст	0,20	**0,03**	ЛПВП и HOMA-IR	-0,36	**0,01**
ИМТ и АЛТ	0,21	**0,03**	ЛПВП и ГК	-0,27	**0,01**
ИМТ и ГГТП	0,20	**0,04**	ЛПВП и АФП	-0,23	**0,04**
ИМТ и ЩФ	0,27	**0,01**	ЛПВП и ИЛ-6	-0,18	**0,04**
ИМТ и плотность печени по УЗЭ	0,27	**0,03**	ЛПНП и лептин	0,46	**0,003**
ИМТ и ГЛП	-0,21	**0,04**	ЛПНП и инсулин	0,25	**0,04**
ИМТ и ИЛ-6	0,26	**0,01**	ЛПНП и HOMA-IR	0,21	**0,04**
ТГ и возраст	0,25	**0,03**	ЛПНП и С-пептид	0,21	**0,03**
ТГ и ХС	0,22	**0,01**	ЛПНП и ГЛП	-0,32	**0,001**
ТГ и ЛПВП	-0,31	**<0,001**	ЛПНП и ФНО-α	-0,19	**0,04**
ТГ и ЛПНП	0,22	**0,01**	Глюкоза и возраст	0,21	**0,04**
ХС и ЛПВП	0,54	**<0,001**	Глюкоза и АФП	0,32	**0,03**
ХС и ЛПНП	0,85	**<0,001**	Глюкоза и С-пептид	0,47	**0,01**
ХС и лептин	0,25	**0,04**	Инсулин и ВН	0,28	**0,03**
ХС и инсулин	0,24	**0,04**	HOMA-IR и ВН	0,29	**0,03**
ХС и МДА	-0,20	**0,04**	HOMA-IR и ГГТП	0,24	**0,04**
ХС и ГЛП	-0,20	**0,04**	HOMA-IR и инсулин	0,34	**0,01**

ХС и ФНО-α	-0,20	**0,04**	HOMA-IR и каталаза	-0,26	**0,04**
ХС и ИЛ-6	-0,19	**0,04**	С-пептид и АФП	0,26	**0,04**
ЛПВП и возраст	-0,23	**0,01**	С-пептид и каталаза	-0,34	**0,03**
ЛПВП и АЛТ	-0,35	**<0,001**	Лептин и возраст	0,38	**0,01**
ЛПВП и АСТ	-0,29	**<0,001**	Лептин и плотность печени	0,28	**0,03**
ЛПВП и билирубин об.	-0,27	**0,002**	Лептин и АФП	0,44	**0,01**
ЛПВП и ГГТП	-0,24	**0,01**	Лептин и МДА	0,24	**0,03**
ЛПВП и ЩФ	-0,33	**<0,001**	Лептин и С-пептид	0,38	**0,01**
ЛПВП и глюкоза	-0,45	**0,001**	Лептин и ИЛ-6	0,26	**0,03**

Примечание: p – достоверность различий.

В группе пациентов с АЦП триглицериды демонстрировали обратную взаимосвязь с ЛПВП (r=-0,45; p=0,02), которые в свою очередь обратно коррелировали с маркером холестаза ГГТП (r=-0,43; p=0,02).

Таким образом, нарушения метаболических тестов, преимущественно в виде повышения уровня триглицеридов, инсулина, индекса HOMA-IR, С-пептида и лептина наблюдались у 30% больных ХГ. Более выраженные метаболические нарушения в виде уменьшения концентрации ХС, гиперинсулинемии, гиперлептинемии и повышения уровня С-пептида маркировали переход ХГ в цирроз. Наличие положительных коррелляций инсулина и показателя инсулинорезистентности с высоким уровнем вирусемии указывает на усугубление метаболических нарушений в фазе реактивации процесса. При АЦП метаболические нарушения проявлялись в виде гипогликемии, гипохолестеринемии, гипертриглицеридемии, что по-видимому обусловлено снижением синтетической функции печени.

Резюме

Изучив основные патогенетические механизмы фиброгенеза при ХЗП вирусной и алкогольной этиологии мы выделили ведущие: активация процессов перекисного окисления липидов, истощение механизмов антиоксидантной защиты, гиперпродукция цитокинов, нарушение обмена железа, усиление регенеративных механизмов и неоангиогенеза в печени, предопределяющих исход хронического гепатита в цирроз. Также мы выделили значимые патогенетические факторы, маркирующие выраженность фиброза и позволяющие диагностировать цирроз печени: гиалуроновая кислота, альфа-фетопротеин, альбумин, число тромбоцитов, ферритин, фактор некроза опухоли-α, интерлейкин-6, васкулоэндотелиальный фактор роста, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор и малоновый диальдегид.

ГЛАВА 4. ВЗАИМОСВЯЗЬ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ТЕСТОВ С ТЕМПОМ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ

4.1. Оценка скорости развития фиброза при хроническом гепатите

Изучение влияния исследуемых факторов на скорость прогрессирования фиброза печени происходило на модели ХГ. Для этого были комплексно проанализированы данные анамнеза и установлена предполагаемая длительность заболевания у 110 лиц, которая варьировала от 2 до 18 лет и в среднем составляла 5,96±3,49 лет. При сравнительном изучении предполагаемого периода инфицирования в зависимости от пола больных выявлено, что у мужчин средняя длительность заболевания была короче и составляла 5,3±2,9 лет, у женщин – 6,5±2,8 лет (p=0,04) (рис. 10).

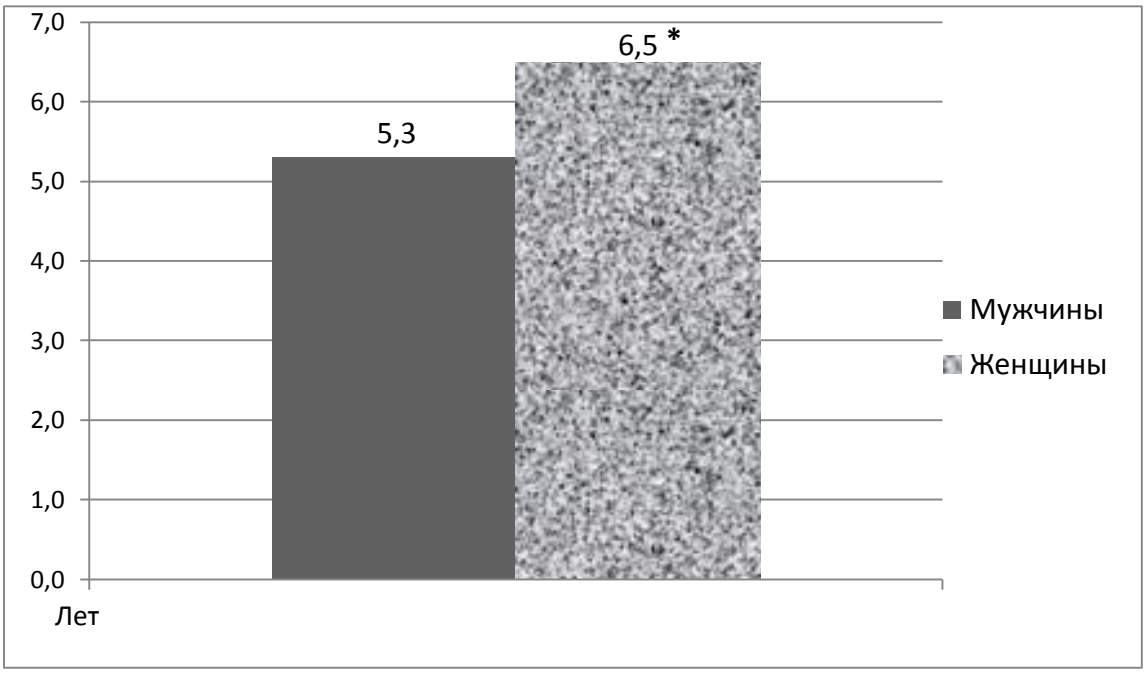

Рис. 10. Длительность заболевания у мужчин и женщин с ХГ, p<0,05.

Предполагаемая длительность инфекционного процесса у пациентов с HCV-1 варьировала от 2 до 18 лет, в среднем - 6,1+3,6 лет, у больных с HCV-2, 3 была от 2 до 15 лет, в среднем - 6,1±3,4 лет (p=0,87).

При изучении предполагаемого периода инфицирования в зависимости от выраженности фиброза достоверное его нарастание было выявлено от стадии F3 (7,7+4,0 года) к F4 (11,3+5,9 лет) (p=0,01) (рис. 11).

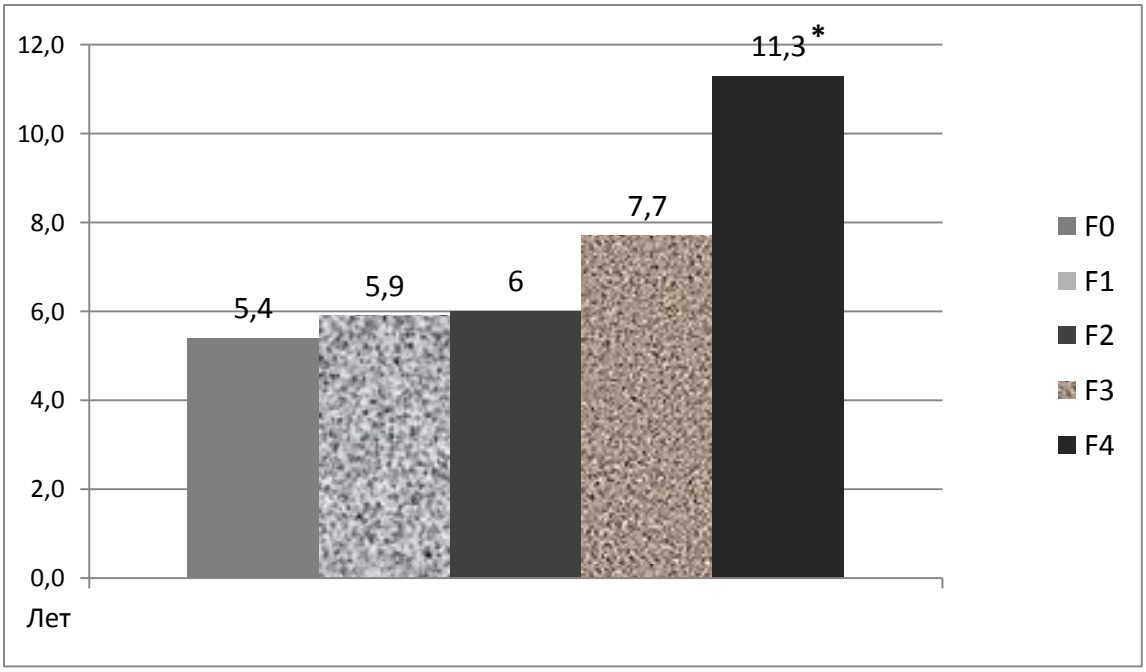

Рис. 11. Длительность заболевания в зависимости от стадий фиброза, p<0,05.

Корреляционный анализ подтвердил наличие взаимосвязи между длительностью инфицирования и выраженностью фиброза в печени по данным УЗЭ (r=0,27; p=0,01). Таким образом, длительность инфекционного процесса, характеризующая темпы прогрессии заболевания, увеличивается преимущественно к стадии ЦП в исходе ХГ, короче у мужчин и не связана с генотипом.

У всех пациентов с определенной длительностью инфекции и стадией заболевания (выраженность фиброза в печени) по результатам УЗЭ печени, была рассчитана СРФ, как соотношение стадии фиброза (в баллах) к длительности заболевания (в годах) [312], что позволило нам выделить быстрый (до 10 лет) и медленный (более 10 лет) темпы прогрессирования фиброза в ЦП при ХГ.

В нашем исследовании СРФ в среднем составила 0,19±0,18 балла/год (от 0 до 2 баллов/год). Следует отметить, что у больных ХГ с начальным фиброзом (F1) средняя СРФ была достоверно ниже (0,21±0,13 балла/год), чем у пациентов с последующими стадиями заболевания: F2 - 0,44±0,31 балла/год (p=0,01), F3 - 0,53±0,4 балла/год (p=0,01), F4 - 0,51±0,03 балла/год (p=0,69) (рис. 12).

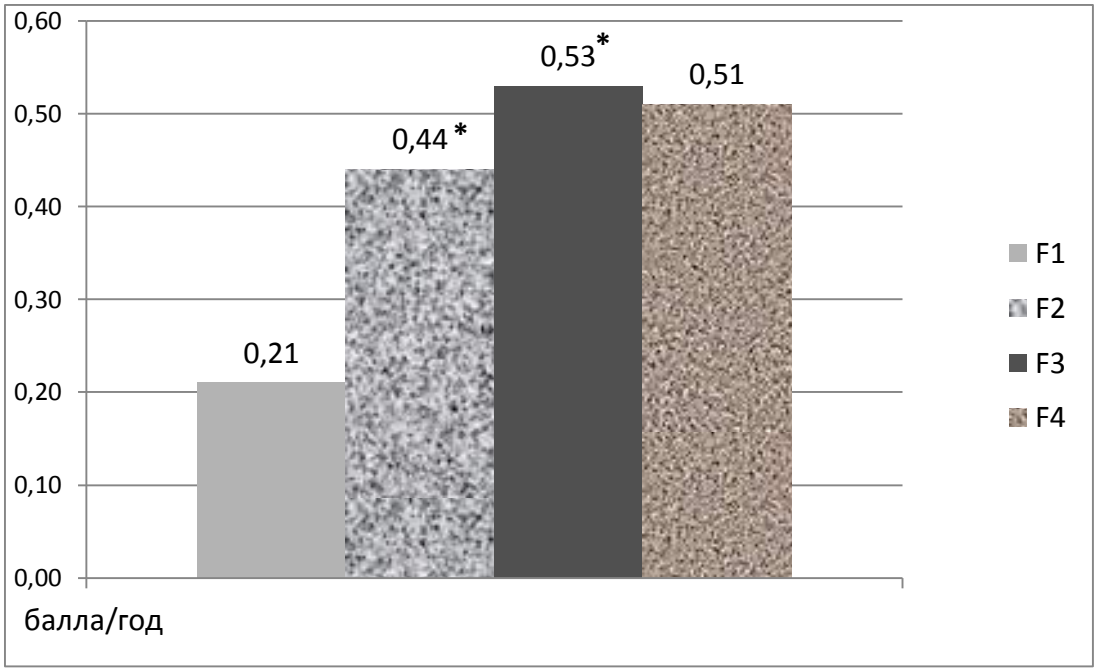

Рис. 12. Скорость развития фиброза в зависимости от степени его выраженности, $p<0,05$.

То есть, темпы прогрессии фиброза нарастают по мере возрастания его стадии. У мужчин СРФ составила в среднем 0,24±0,22 балла/год и почти в 2 раза была выше, чем у женщин – 0,15±0,14 балла/год ($p=0,04$) (рис. 13).

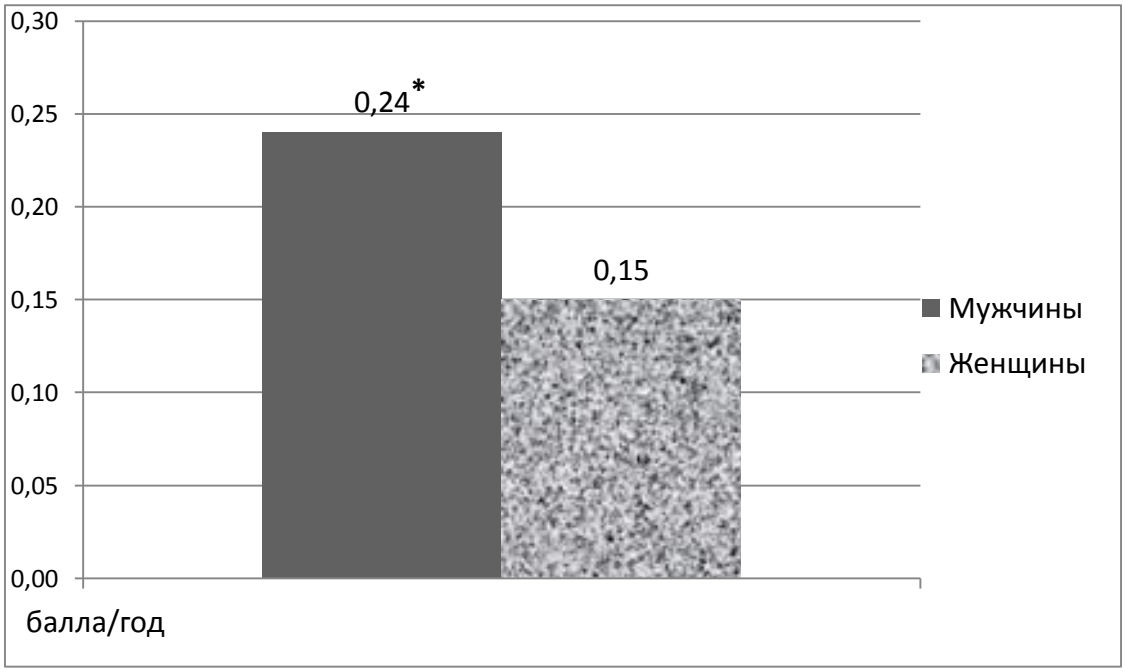

Рис. 13. Скорость развития фиброза у мужчин и женщин с ХГ, $p<0,05$.

То есть, у мужчин имеются более выраженные темпы прогрессии фиброза. Достоверных различий СРФ у пациентов с генотипами HCV-1 и HCV-2,3 не было найдено (0,22±0,2 и 0,2±0,19 балла/год соответственно, p=0,47).

Таким образом, СРФ, характеризующая темпы прогрессии HCV-инфекции, увеличивается от стадии к стадии заболевания, более выражена у мужчин и не связана с генотипом вируса. То есть, факторы вируса, по-видимому, не оказывают значимого влияния, как на длительность заболевания, так и на темпы прогрессирования фиброза.

Далее пациенты с ХГ были условно разделены на две группы по СРФ. В первую группу вошли 67 (61%) пациентов с медленной СРФ (<0,19 балла/год), а во вторую группу включены 43 (39%) больных с высокой СРФ (>0,19 балла/год). Скорость развития фиброза в группе с медленным темпом прогрессирования заболевания составила в среднем 0,02±0,02 балла/год, у пациентов с быстрым темпом прогрессирования заболевания – 0,45±0,34 балла/год (p<0,001). Длительность заболевания в группе с медленным темпом прогрессирования ФП составила в среднем 6,65±3,1 лет (от 2 до 18 лет), у больных с быстрым темпом прогрессирования фиброза – 5,1±3,6 лет (от 2 до 10 лет) (p=0,02) (рис. 14).

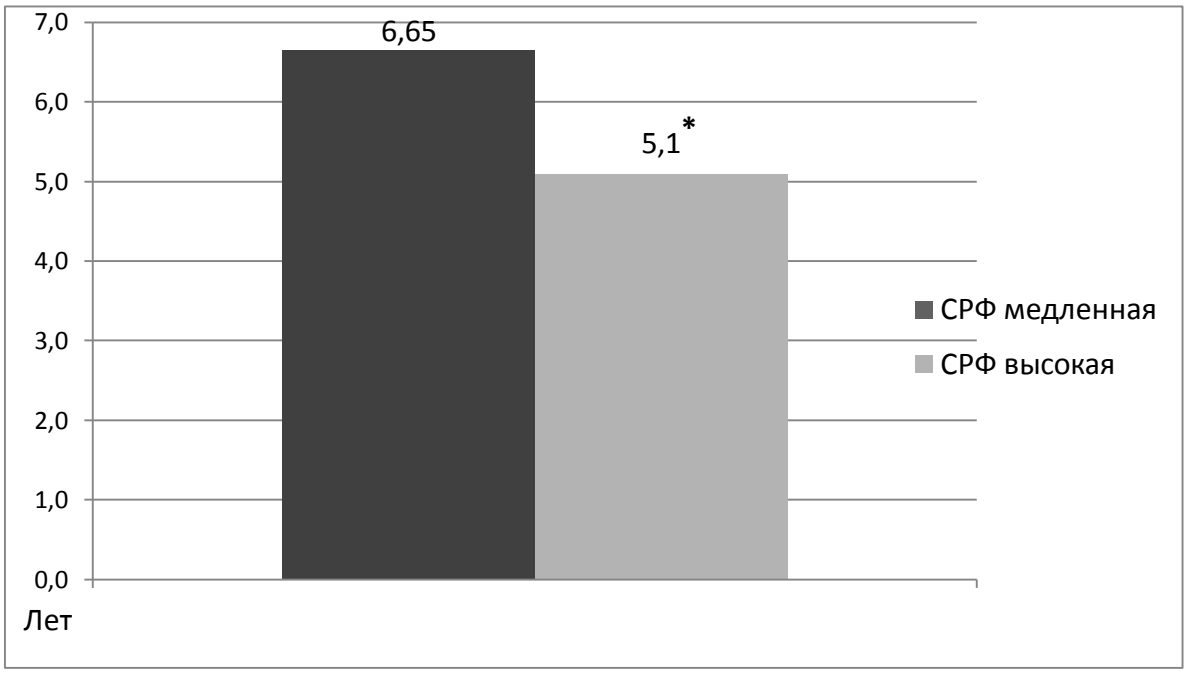

Рис. 14. Длительность заболевания в зависимости от скорости развития фиброза, p<0,05.

В группе с медленной СРФ лица женского пола несколько преобладали и составляли 58%. В группе с быстрым темпом прогрессирования фиброза соотношение мужчин и женщин было практически одинаково - 51% и 49% соответственно. Значимых различий по возрасту пациентов в зависимости от темпов прогрессирования фиброза не было найдено (p=0,45) (рис. 15).

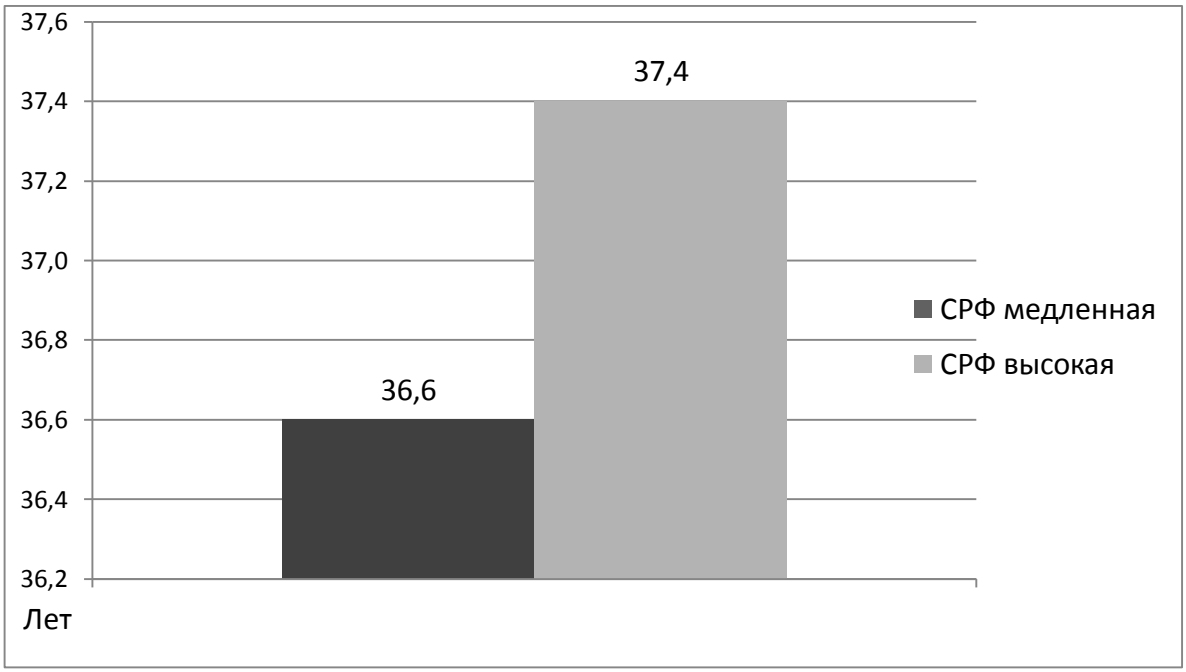

Рис. 15. Возраст пациентов в зависимости от скорости развития фиброза.

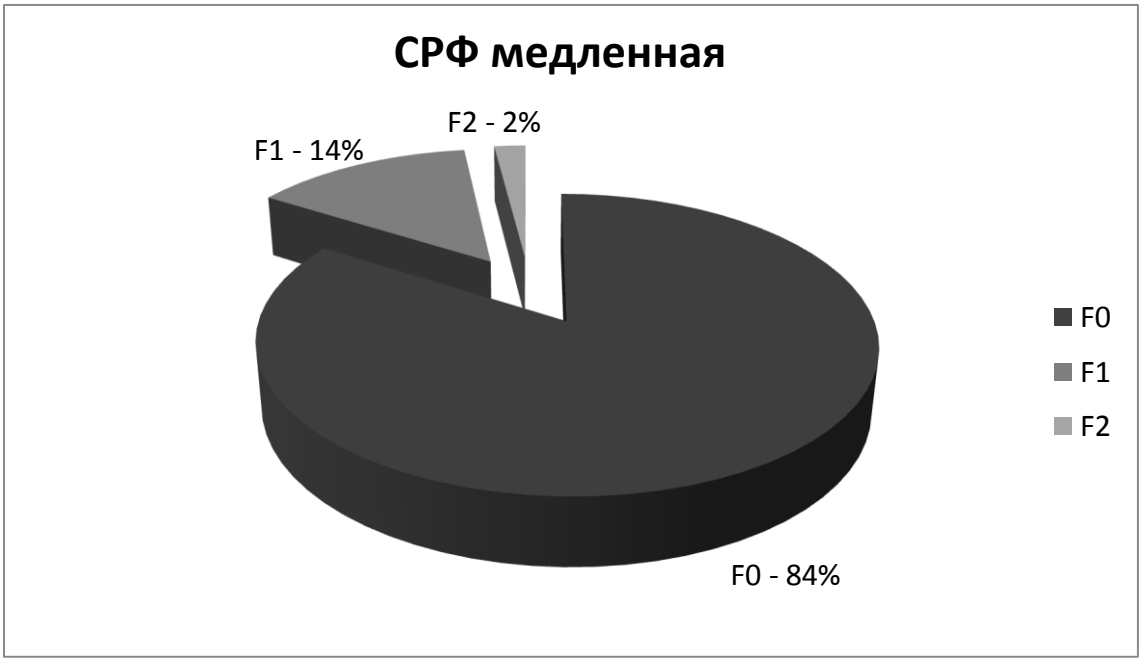

Рис. 16. Распределение по стадиям фиброза в группе пациентов с медленным темпом прогрессирования заболевания.

При анализе распределения по стадиям фиброза при медленном темпе прогрессирования заболевания преобладали пациенты со F0 (84%), больные со стадиями F1 и F2 составляли соответственно 14% и 2% (рис. 16).

При быстром темпе прогрессирования заболевания наоборот, преобладали пациенты со стадией F4 (37%), больные со стадиями F1, F2 и F3 составляли соответственно 24%, 26% и 13% (рис. 17).

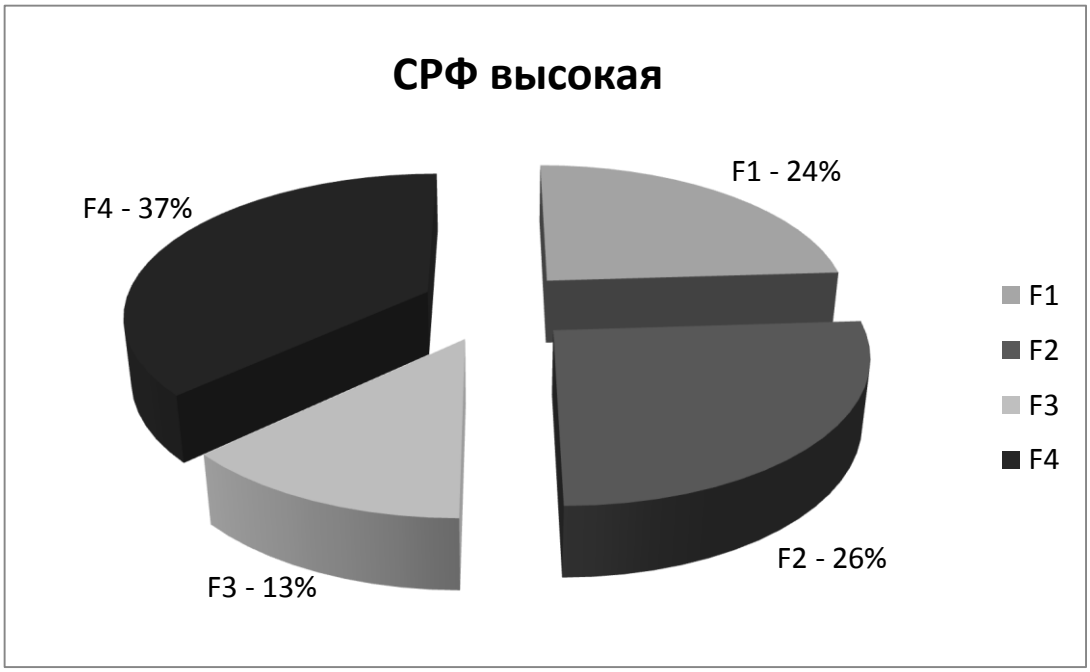

Рис. 17. Распределение по стадиям фиброза в группе с быстрым темпом прогрессирования заболевания.

То есть, при быстрой прогрессии заболевания 50% больных имели тяжелый фиброз и ЦП в исходе ХГ. Таким образом, СРФ печени, характеризующая темпы прогрессирования ХГ, увеличивается по мере выраженности фиброза и более значима у мужчин.

4.2. Взаимосвязь патогенетически значимых тестов с динамикой развития фиброза

В группе больных с высокой СРФ ожидаемо регистрировались достоверно большие значения плотности печени по данным УЗЭ ($p<0,001$). Уровни ГК и АФП при быстром темпе прогрессии заболевания были выше в 2,3 и 1,3 раза

соответственно, чем при медленной СРФ (p<0,001 и p=0,04, соответственно) (табл. 33).

Таблица 33

Значения плотности печени, уровней ГК и АФП в зависимости от темпов прогрессии фиброза при ХГ, Me (25; 75)

Показатели	**СРФ медленная**	**СРФ высокая**	**p**
Плотность печени, кПа	5,3 (4,6; 5,8)	8,5 (6,8; 8,9)	**< 0,001**
ГК, нг/мл	22,3 (17; 30,9)	52,3 (34; 78,6)	**< 0,001**
АФП, МЕ/мл	1,8 (1,3; 2,6)	2,5 (1,9; 3,5)	**0,03**

Примечание: p – достоверность различий.

Корреляционный анализ подтвердил наличие достоверных взаимосвязей темпа прогрессирования фиброза с плотностью печени (r=0,86; p<0,001), ГК (r=0,6; p<0,001) и АФП (r=0,49; p=0,001).

Полученные данные свидетельствуют о том, что высокая СРФ характеризуется повышением концентраций ГК и АФП в сыворотке крови. То есть, прогрессирование процессов фиброза при ХГ сопровождается активацией механизмов регенерации.

В группах больных ХГ с медленной и высокой СРФ значимых различий биохимических тестов не было получено (табл. 34).

Таблица 34

Биохимические показатели и количество тромбоцитов в зависимости от скорости развития фиброза, Me (25; 75)

Показатели	**СРФ медленная**	**СРФ высокая**	**p**
АЛТ, Е/л	58,2 (33; 103)	57,9 (34; 96)	0,98
АСТ, Е/л	37,9 (26; 46)	38,3 (25; 57)	0,67
Билирубин общ., мкмоль/л	10,8 (6,8; 16)	9,4 (6,8; 11,8)	0,26
Билирубин пр., мкмоль/л	4,1 (2,6; 6)	3,7 (2,8; 4,5)	0,67
ЩФ, Е/л	63,5 (52; 75)	59,6 (49; 77)	0,56

ГГТ, Е/л	31 (20; 44)	30,3 (17; 51)	0,79
Общий белок, г/л	73,0 (70; 76,6)	74, 0 (71; 77)	0,23
Альбумин, г/л	48,0 (45; 49)	46,8 (43; 48,7)	0,20
Тромбоциты, $*10^9$/л	251,0 (213; 311)	247,6 (198; 302)	0,51

Примечание: p – достоверность различий.

В группе пациентов с быстрым прогрессированием фиброза регистрировались достоверно более низкая активность каталазы (p=0,04), повышенные уровни сывороточного железа (p=0,03), ферритина (p=0,03) и ВЭФР (p=0,03) (табл. 35).

Таблица 35

Значения МДА, каталазы, ГЛП, показателей метаболизма железа и цитокинов в зависимости от скорости развития фиброза при ХГ, Me (25; 75)

Показатели	**СРФ медленная**	**СРФ высокая**	**p**
МДА, мкмоль/л	7,8 (5,7; 12,8)	7,0 (5,1; 11,2)	0,24
Каталаза,мкат/л	9,8 (6,7; 15,9)	8,6 (6,1; 12)	**0,04**
ГЛП, мкмоль/л	6,7 (4,3; 9,8)	7,5 (4,7; 10,5)	0,12
Сывороточное железо, мкмоль/л	15,4 (3; 19)	24,3 (13; 43)	**0,03**
ОЖСС, мкмоль/л	52,2 (42; 62)	52,4 (49; 58)	0,56
Ферритин, нг/мл	55,2 (30; 101)	110,2 (42; 452)	**0,03**
ВЭФР, пг/мл	335,9 (177; 490)	387,0 (279; 710)	**0,03**
Г-КСФ, пг/мл	8,1 (4,5; 13,4)	8,6 (5,5; 15,2)	0,85
ФНО-α, пг/мл	1,6 (0,9; 2,8)	1,8 (0,9; 3,6)	0,54
ИЛ-6, пг/мл	0,7 (0; 3,2)	0,8 (0; 4,1)	0,72

Примечание: p – достоверность различий.

Корреляционный анализ подтвердил наличие прямых достоверных взаимосвязей темпа прогрессирования фиброза при ХГ с уровнем ферритина (r=0,23; p=0,04) и концентрацией ВЭФР (r=0,21; p=0,04).

При анализе метаболических параметров в зависимости от СРФ достоверные различия были получены только для концентрации глюкозы, которая у больных с быстрой прогрессией фиброза имела более низкие значения (p=0,002) (табл. 36).

Таблица 36

Значения метаболических маркеров у больных ХГ в зависимости от скорости развития фиброза, Me (25; 75)

Показатели	**СРФ медленная**	**СРФ высокая**	**p**
ИМТ (кг/м2)	24,0 (21,7; 26)	23,0 (20; 27)	0,87
Глюкоза, ммоль/л	5,1 (4,6; 5,9)	3,1 (2,5; 4,1)	**0,002**
ХС, ммоль/л	4,4 (3,8; 4,9)	4,5 (3,9; 5,3)	0,27
ТГ, ммоль/л	1,2 (0,9; 1,56)	1,0 (0,8; 1,3)	0,18
ЛПВП, ммоль/л	1,4 (1,04; 1,59)	1,38 (1,15; 1,7)	0,17
ЛПНП, ммоль/л	2,5 (2; 2,9)	2,6 (2,3; 3,1)	0,49
ЛПОНП, ммоль/л	0,56 (0,4; 071)	0,47 (0,36; 0,65)	0,15
Инсулин,мкМЕ/мл	7,6 (5,3; 9,8)	8,6 (6,2; 12,5)	0,50
HOMA-IR	1,8 (1,1; 3)	2,0 (1,2; 3,1)	0,47
С-пептид,нг/мл	2,3 (1,5; 3,5)	2,8 (1,9; 4,5)	0,70
Лептин, нг/мл	3,1 (2; 5,4)	3,0 (2; 4,9)	0,72

Примечание: p – достоверность различий.

Таким образом, высокая СРФ сопровождается снижением уровня глюкозы, что может быть следствием снижения синтеза гликогена в печени и подтверждается наличием обратной достоверной взаимосвязи темпа прогрессирования фиброза с концентрацией глюкозы ($r=-0,65$; $p<0,001$).

Полученные данные свидетельствуют, что высокая СРФ характеризуется повышением концентраций ВЭФР, железа и ферритина, снижением уровня глюкозы и активности каталазы в сыворотке крови. То есть, прогрессирование фиброза при ХГ связано с активацией механизмов неоангиогенеза и сосудистого ремоделирования, что связано с гиперпродукцией ВЭФР, нарастанием нарушений метаболизма железа, гипогликемией и истощением антиоксидантной защиты.

Резюме

Длительность заболевания увеличивается преимущественно в переходе к ЦП в исходе ХГ и не связана с генотипом вируса. Высокая скорость развития фиброза ассоциирована с мужским полом.

Прогрессирование фиброза связано с активацией механизмов регенерации, сосудистой перестройки и неоангиогенеза в печени, нарастанием нарушений обмена железа, снижением базального уровня глюкозы и истощением антиоксидантной защиты. Следовательно, при прогрессировании ФП изменяются различные функциональные печеночные тесты, что объясняет включение прямых и непрямых маркеров фиброза в фибропанели.

ГЛАВА 5. МОДЕЛИ НЕИНВАЗИВНОЙ ОЦЕНКИ СТАДИЙ, ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ФИБРОЗА И РИСКА РАЗВИТИЯ ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ

Для построения математической модели, учитывающей индивидуальную совокупность лабораторных предикторов прогрессирования фиброза и позволяющих установить стадию фиброза печени, был использован метод множественной регрессии. В качестве зависимой переменной выступала плотность печеночной ткани по данным УЗЭ, а в качестве предикторов (независимых переменных) – параметры, имеющие наибольшую статистически значимую взаимосвязь с выраженностью фиброза. Решение уравнения позволяло получить прогнозируемое значение плотности печени, именуемое в дальнейшем «индекс фиброза» (ИФ) и дифференцировать подгруппы с различными стадиями фиброза на модели ХГС. Оценку предсказательной ценности маркеров развития ФП и выбор их пороговых значений проводили с помощью ROC-анализа и построением графиков ROC-кривых.

5.1. Диагностическая значимость гиалуроновой кислоты для оценки стадии фиброза печени

В рамках данного исследования была установлена корреляционная связь плотности печеночной ткани по данным УЗЭ с лабораторным прямым маркером фиброза ГК (r=0,79), которая имеет хорошую предсказательную ценность для диагностики стадии ФП.

Оценка лабораторных характеристик данной тестовой методики определения стадии ФП на модели больных ХГС (n=120) проводилась по четырехпольной таблице с расчетом показателей чувствительности и специфичности, а также показателей воспроизводимости и соответствия. Диагностические характеристики теста определения сывороточного уровня ГК для оценки стадии ФП при ХГС представлены в таблице 37.

Таблица 37

Диагностические характеристики гиалуроновой кислоты для оценки стадии ФП

Диагностические характеристика	**Значения, %**
Чувствительность	86,4
Специфичность	91,9
Показатель воспроизводимости	80,9
Показатель соответствия	88,9

Для оценки предсказательной ценности ГК и выбора пороговых значений был построен график ROC-кривой (рис. 18). Площадь ROC-кривой для ГК, как предиктора ФП составила AUC 0,94±0,03 (доверительный интервал 0,86-0,98), p<0,001.

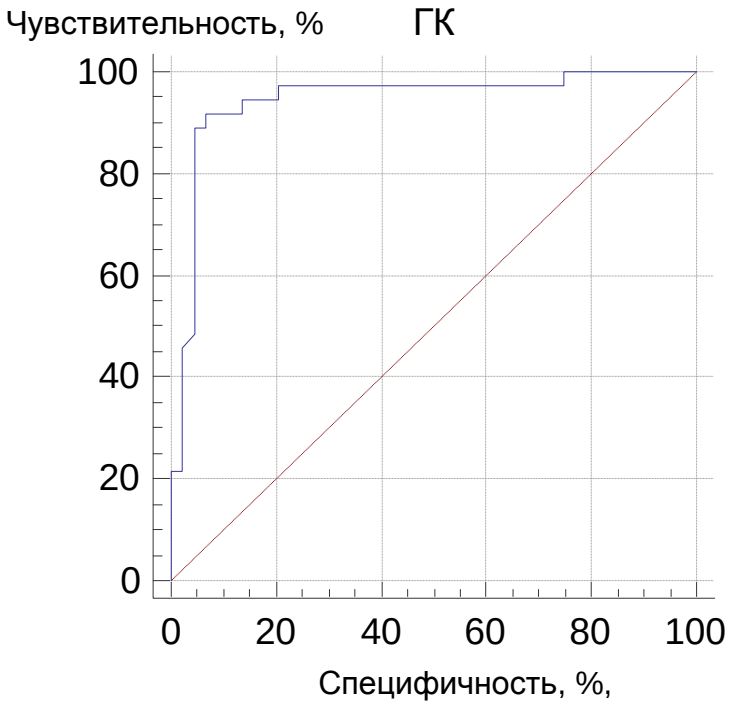

Рис. 18. ROC-кривая для гиалуроновой кислоты.

Индекс Юдена для данного показателя составил 0,85. Оптимальное пороговое значение ГК для исключения ФП составило 42 нг/мл при

чувствительности – 91,9% и специфичности – 93,2%. Пороговые значения ГК для диагностики стадий ФП при ХГС представлены в таблице 38.

Таблица 38

Пороговые значения гиалуроновой кислоты для стадий фиброза

Стадии ФП (F)	**Гиалуроновая кислота, нг/мл**
F0 от F1-2	42
F1-2 от F3	70,3
F3 от F4	104,3

Таким образом, отсутствие фиброза печени (F0) диагностируется при сывороточной концентрации ГК менее или равном 42 нг/мл. Стадия умеренного фиброза (F1-2) устанавливается при уровне ГК более 42 нг/мл и менее или равном 70,3 нг/мл, стадия выраженного фиброза (F3) - при содержании ГК более 70,3 нг/мл и менее или равном 104,3 нг/мл, ЦП в исходе ХГС диагностируется при уровне ГК более 104,3 нг/мл.

5.2. Диагностическое значение индекса фиброза на модели больных хроническим гепатитом

С целью оценки события для каждого больного (в нашем случае – стадии ФП) мы использовали метод множественной регрессии. В рамках данного исследования была установлена корреляционная связь плотности печеночной ткани по данным УЗЭ с тремя лабораторными параметрами крови: тромбоцитами (r=0,9), ФНО-α (r=0,89) и альбумином (r=0,9), которые были включены в математическую модель диагностики стадии ФП. Построение уравнения расчета ИФ печени было выполнено на модели 70 пациентов с ХГС, из которых у 25 человек по данным УЗЭ фиброза не было (F0), 32 больных имели умеренный ФП (F1-2), у 13 пациентов наблюдался выраженный фиброз стадий F3-4. Уравнение множественной регрессии выглядит следующим образом:

$$ИФ=3,79 - 0,0056 \times Тр + 0,0855 \times ФНО\text{-}\alpha - 0,0352 \times Альбумин$$

где *ИФ* – индекс фиброза,

3,79 – константа,

0,0056, 0,0855 и 0,0352 – коэффициенты показателей,

Тр – тромбоциты (10^9 /л),

ФНО-α – фактор некроза опухоли альфа сыворотки крови (пг/мл),

Альбумин – альбумин сыворотки крови (г/л).

Значение индекса фиброза в интервале от 0 до 0,5 включительно свидетельствует об отсутствии фиброза (стадия F0), значение индекса фиброза в интервале от 0,6 до 2,5 соответствует умеренной стадии фиброза (F1-2), индекс фиброза более 2,5 диагностирует выраженную стадию (F3-4) при ХГС. Диагностические характиристики математической модели оценки стадии ФП при ХГС представлены в таблице 39.

Таблица 39

Диагностические характеристики математической модели оценки стадии ФП

Диагностические характеристики	**Значения, %**
Чувствительность	93,3
Специфичность	83
Показатель воспроизводимости	87,5
Показатель соответствия	81,4

Клинические примеры применения математической модели фиброза печени у пациентов с хроническим гепатитом

Клинический пример 1. Больная Т. 35 лет. В течение 4 лет наблюдалась у инфекциониста по поводу хронического гепатита С, HCV-3, вирусная нагрузка $3,8 \times 10^6$ копий/мл. Направлена в инфекционное отделение для проведения комбинированной противовирусной терапии. Активных жалоб на момент осмотра не предъявляла. Кожа и склеры физиологической окраски, печень +0,5 см ниже края реберной дуги. Живот мягкий, безболезненный. Количество тромбоцитов в

крови 392×10^9/л, концентрация ФНО-α в сыворотке крови 0,1 пг/мл, сывороточный уровень альбумина – 50,1 г/л.

Расчет индекса фиброза: ИФ=3,79-0,0056×392+0,0855×0,1-0,0352×50,1=0,08, что свидетельствует об отсутствии фиброза (F0). Результат согласуется с плотностью печени по данным УЗЭ: 4,5 кПа (стадия F0).

Клинический пример 2. Больная Ш. 27 лет. В течение 7 лет наблюдалась у инфекциониста по поводу хронического гепатита С, HCV-1, вирусная нагрузка высокая 8,3× 10^6 копий/мл. Направлена в инфекционное отделение для проведения комбинированной противовирусной терапии. На момент осмотра пациентка предъявляла жалобы на снижение работоспособности. Кожа и склеры физиологической окраски, печень у края реберной дуги, селезенка не пальпируется, живот мягкий, безболезненный. Количество тромбоцитов в крови 250×10^9/л, концентрация ФНО-α в сыворотке крови 3 пг/мл, сывороточный уровень альбумина – 47,2 г/л.

Расчет индекса фиброза: ИФ=3,79-0,0056×250+0,0855×3-0,0352×47,2=0,98, что позволяет диагностировать умеренный фиброз (F1-2). Данные плотности печени по результатам УЗЭ: 7,8 кПа (стадия F2).

Клинический пример 3. Больной К. 38 лет. Обратился к врачу 5 месяцев назад с жалобами на диспепсию, выраженную слабость, кровоточивость десен. При обследовании был диагностирован цирроз печени в исходе хронического гепатита. При объективном осмотре отмечалась субиктеричность склер, печень +2 см ниже края реберной дуги, спленомегалия, живот вздут, некоторая болезненность в левом подреберье. Количество тромбоцитов в крови 110×10^9 /л, концентрация ФНО-α в сыворотке крови 22,7 пг/мл, сывороточный уровень альбумина – 32 г/л. Расчет индекса фиброза: ИФ=3,79-0,0056×110+0,0855×22,7-0,0352 ×32=3,98, что позволяет диагностировать переход ХГС в ЦП (F4). Данные плотности печени по результатам УЗЭ: 23,9 кПа (стадия F4).

Для оценки предсказательной ценности значимых маркеров ФП и выбора их пороговых значений были построены графики ROC кривых для параметров тромбоцитов, альбумина и ФНО-α (рис. 19).

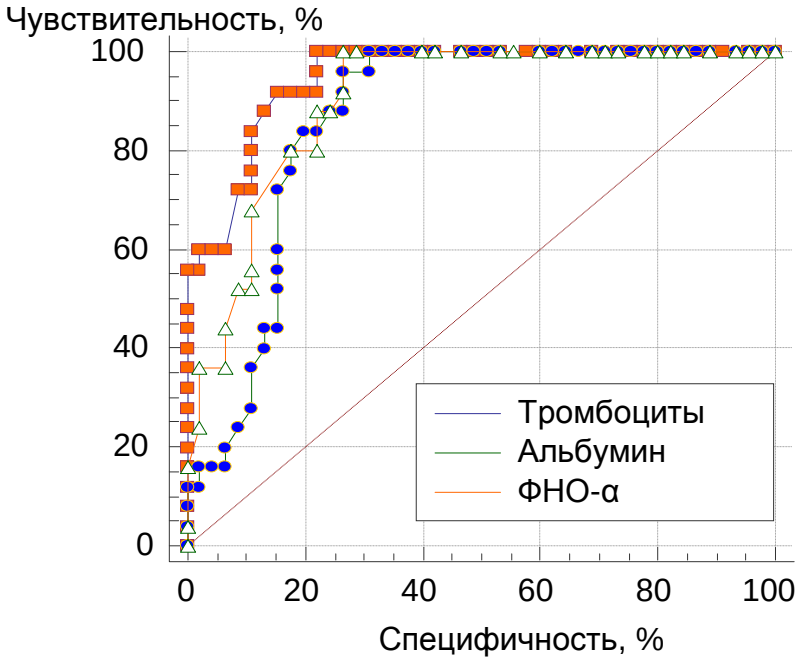

Рис. 19. ROC- кривые для тромбоцитов, альбумина и ФНО-α; ○ – тромбоциты; Δ - альбумин; □ – ФНО-α.

ROC-кривая отображает графически зависимость количества правильно верифицированных истинно положительных результатов от количества отрицательных и позволяет оценить эффективность тестов [20]. Оценку графических моделей проводили по экспертной шкале значений площади под ROC-кривой (Area Under Curve), данные которой отражены в таблице 40.

Таблица 40

Шкала оценки качества модели по значениям площади под ROC-кривой

Интервалы для значений площади под под ROC-кривой (AUC)	**Качество модели**
0,9–1,0	Отличное
0,8–0,9	Очень хорошее
0,7–0,8	Хорошее
0,6–0,7	Среднее
0,5–0,6	Неудовлетворительное

Площадь ROC-кривой тромбоцитов для прогнозирования риска прогрессирования ФП составила AUC 0,95± 0,02 (доверительный интервал 0,86 -

0,99), p < 0,001. Индекс Юдена для данного показателя равнялся 0,78. Пороговое значение тромбоцитов для исключения ФП составило 282×10^9/л (чувствительность – 100%, специфичность – 77,8%) (рис. 20).

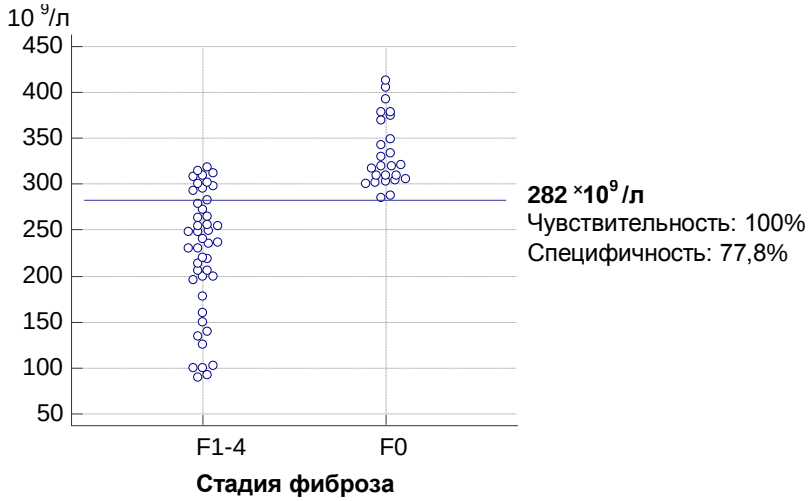

Рис. 20. Пороговое значение тромбоцитов для визуальной оценки балланса чувствительности и специфичности при дифференциации стадий F0 и F1-4.

Площадь ROC-кривой альбумина для прогнозирования риска прогрессирования ФП составила AUC 0,86±0,04 (доверительный интервал 0,760,93), p<0,001. Индекс Юдена для данного показателя равнялся 0,69. Пороговое значение альбумина для исключения ФП составило 47,3 г/л (чувствительность – 96%, специфичность – 73,3%) (рис. 21).

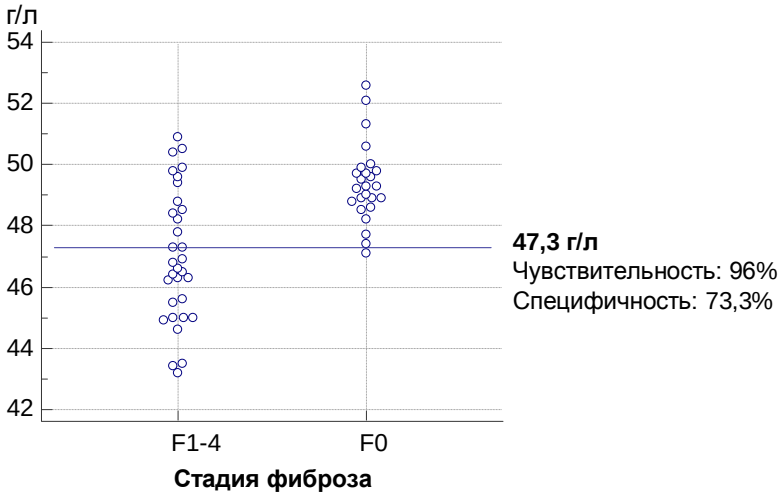

Рис. 21. Пороговое значение альбумина для визуальной оценки балланса чувствительности и специфичности при дифференциации стадий F0 и F1-4.

Площадь ROC-кривой ФНО-α для прогнозирования риска прогрессирования ФП составила AUC 0,90±0,03 (доверительный интервал 0,80-0,96), p<0,001. Индекс Юдена для данного показателя равнялся 0,73. Пороговое значение ФНО-α для для исключения ФП составило 1,9 пг/мл (чувствительность – 100%, специфичность – 73,3%) (рис. 22).

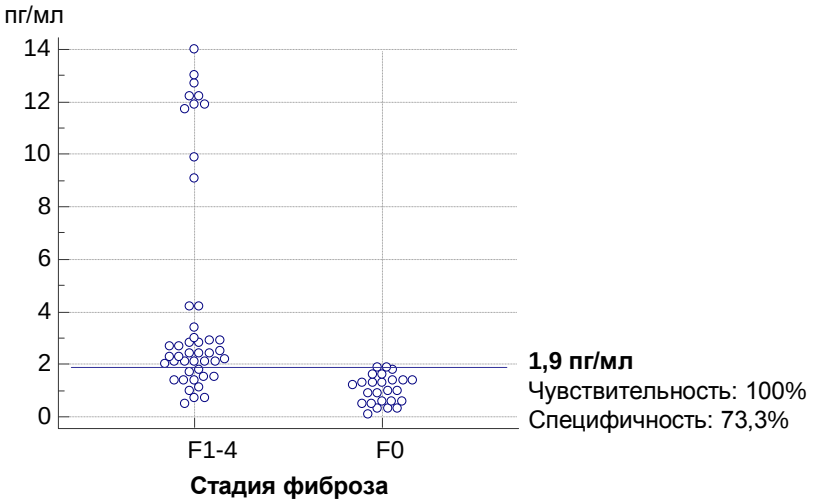

Рис. 22. Пороговое значение ФНО-α для визуальной оценки балланса чувствительности и специфичности при дифференциации стадий F0 и F1–4.

Таким образом, ФП при ХГС исключается при значении числа тромбоцитов более 282×10^9/л (чувствительность – 100%, специфичность – 77,8%), альбумина более 47,3 г/л (чувствительность – 96%, специфичность – 73,3%) и ФНО-α менее 1,9 пг/мл (чувствительность – 100%, специфичность – 73,3%). Пороговые значения тромбоцитов, альбумина и ФНО-α для дифференциации стадий ФП на модели ХГС представлены в таблице 41.

Таблица 41

Пороговые значения тромбоцитов, альбумина и ФНО-α
для дифференциации стадий ФП при ХГС

Стадии ФП (F)	**Предикторы прогрессирования ФП**		
	Тромбоциты, ×10^9/л	Альбумин, г/л	ФНО-α, пг/мл
F0 от F1-2	282	47,3	1,9
F1-2 от F3-4	200	44,1	2,8

Таким образом, отсутствие ФП (F0) при ХГС диагностируется при количестве тромбоцитов в крови более или равном 282 ×10^9/л, уровне альбумина в сыворотке более или равном 47,3 г/л и значении ФНО-α менее или равном 1,9 пг/мл. Стадия умеренного фиброза (F1-2) устанавливается при количестве тромбоцитов в крови более или равном 200×10^9/л и менее 282×10^9/л, уровне альбумина более или равном 44,1 г/л и менее 47,3 г/л и значении ФНО-α более 1,9 пг/мл и менее или равном 2,8 пг/мл. Стадия выраженного ФП (F3-4) верифицируется при количестве тромбоцитов в крови менее 200×10^9/л, уровне альбумина менее 44,1 г/л и значении ФНО-α более 2,8 пг/мл.

5.3. Прогнозирование темпа прогрессирования фиброза печени на модели больных хроническим гепатитом

В рамках данного исследования установлена значимая корреляционная связь темпа прогрессии фиброза с ГК (r=0,6; p<0,001), АФП (r=0,49; p=0,001) и глюкозой (r=-0,65; p<0,001), которые были рассмотрены нами в качестве предикторов прогрессирования ФП на модели ХГС.

Оценку предсказательной ценности данных маркеров в отношении темпа прогрессирования ФП и выбор их пороговых значений проводили с помощью ROC-кривых. Исследуемую выборку разбили на 2 класса: медленная и высокая СРФ. Предсказательную ценность каждого параметра оценивали по шкале значений площади под ROC-кривой (AUC).

Площадь ROC-кривой для ГК, как предиктора прогрессирования фиброза составила AUC 0,95±0,02 (доверительный интервал 0,88-0,98), p<0,001 (рис. 23). Индекс Юдена для данного показателя составил 0,84. Оптимальное пороговое значение ГК для дифференциации темпа прогрессирования ФП равнялось 40,4 нг/мл при чувствительности – 97,1% и специфичности – 87%.

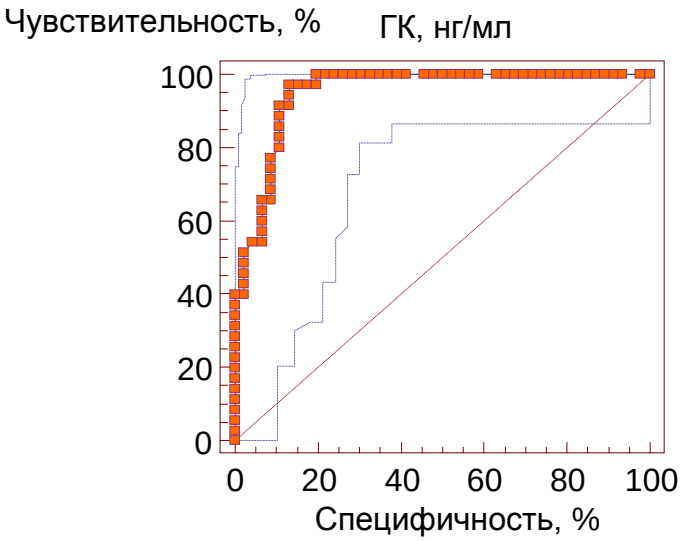

Рис. 23. ROC-кривая для гиалуроновой кислоты.

Площадь ROC-кривой для АФП, как предиктора прогрессирования фиброза составила AUC 0,95±0,02 (доверительный интервал 0,88-0,98), p<0,001 (рис. 24). Индекс Юдена для данного показателя равнялся 0,84. Пороговое значение АФП для дифференциации темпа прогрессирования ФП составило 2,14 МЕ/мл при чувствительности и специфичности 94,4 и 78,1% соответственно.

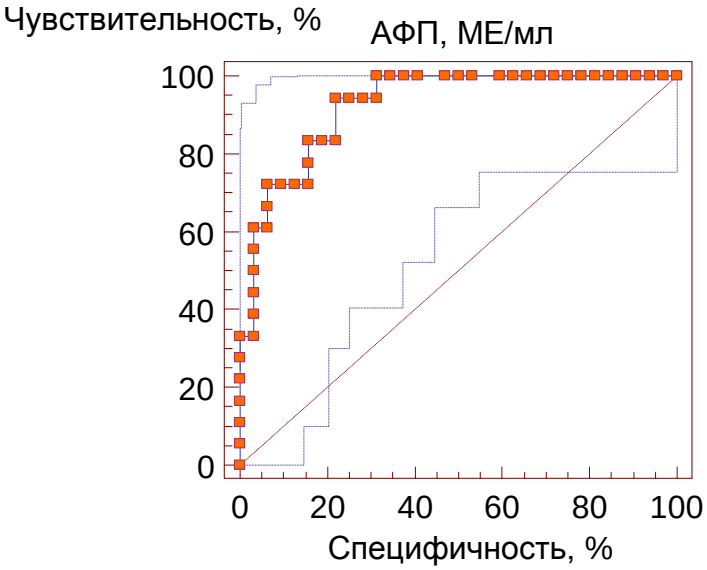

Рис.24. ROC-кривая для альфа-фетопротеина.

Площадь ROC-кривой для глюкозы, как предиктора прогрессирования фиброза составила AUC 0,99±0,01 (доверительный интервал 0,89-1,00), p<0,001 (рис. 25). Индекс Юдена для данного показателя равнялся 0,96. Оптимальное

пороговое значение глюкозы для дифференциации темпа прогрессирования ФП – 4,1 ммоль/мл при чувствительности – 100% и специфичности – 85,7%.

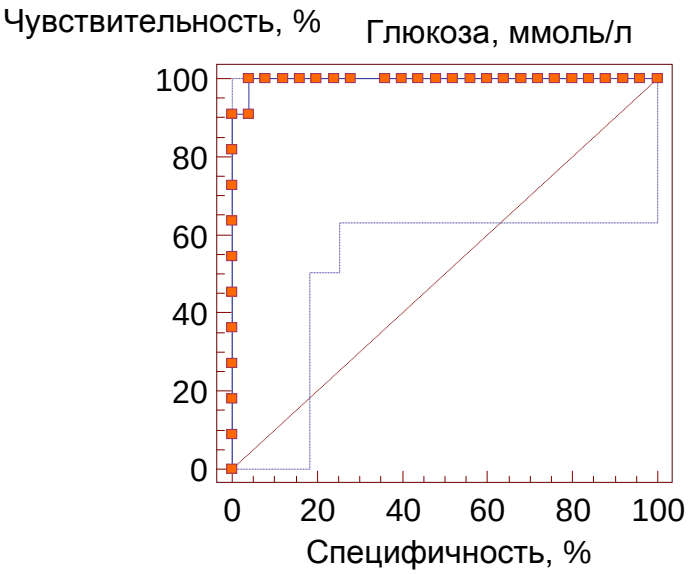

Рис. 25. ROC-кривая для глюкозы.

Таким образом, медленный темп прогрессии ФП при ХГС диагностируется при концентрации ГК в крови менее или равном 40,4 нг/мл, уровне АФП менее или равном 2,14 МЕ/мл и значении глюкозы более или равном 4,1 ммоль/л. Высокий темп прогрессирования фиброза прогнозируется при концентрации ГК в крови более 40,4 нг/мл, уровне АФП более 2,14 МЕ/мл и значении глюкозы менее 4,1 ммоль/л.

5.4. Прогностическая ценность маркеров риска развития цирроза печени

Оценку предсказательной ценности маркеров риска ЦП и выбор их пороговых значений проводили с помощью ROC-кривых на модели из 80 больных ХГС. Исследуемую выборку разбили на 2 группы: стадии фиброза F1-3 (n=60) и доклиническая стадия ЦП в исходе ХГ (n=23).

В рамках данного исследования была установлена корреляционная связь плотности печеночной ткани по данным УЗЭ с маркером регенерации АФП (r=0,53), цитокинами ИЛ-6 (r=0,39) и Г-КСФ (r=0,41), которые имеют хорошую предсказательную ценность для диагностики ЦП в исходе ХГС (F4). Площадь

ROC-кривой для АФП, как предиктора ЦП составила AUC 0,90±0,04 (доверительный интервал 0,78-0,97), p<0,001 (рис. 26). Индекс Юдена для данного показателя равнялся 0,63. Оптимальное пороговое значение АФП для дифференциации стадии F4 от F1-3 – 5,13 МЕ /мл при чувствительности – 70% и специфичности – 93,1%.

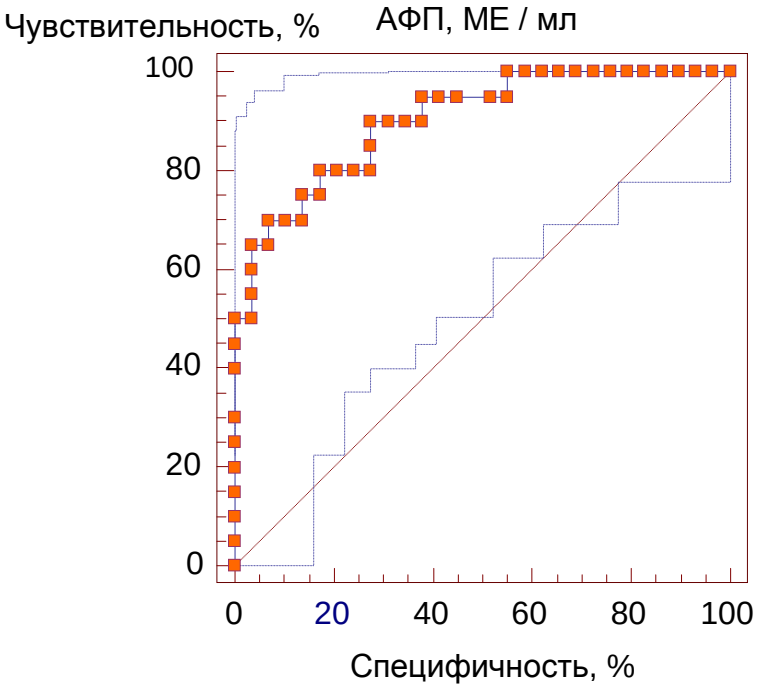

Рис. 26. ROC-кривая для альфа-фетопротеина.

Площадь ROC-кривой для ИЛ-6, как предиктора ЦП составила AUC 0,93±0,03 (доверительный интервал 0,86-0,98), p<0,001 (рис. 27). Индекс Юдена для данного показателя равнялся 0,72. Оптимальное пороговое значение ИЛ-6 для дифференциации стадии F4 от F1-3 – 4,4 пг/мл при чувствительности – 81,8% и специфичности – 88,9%.

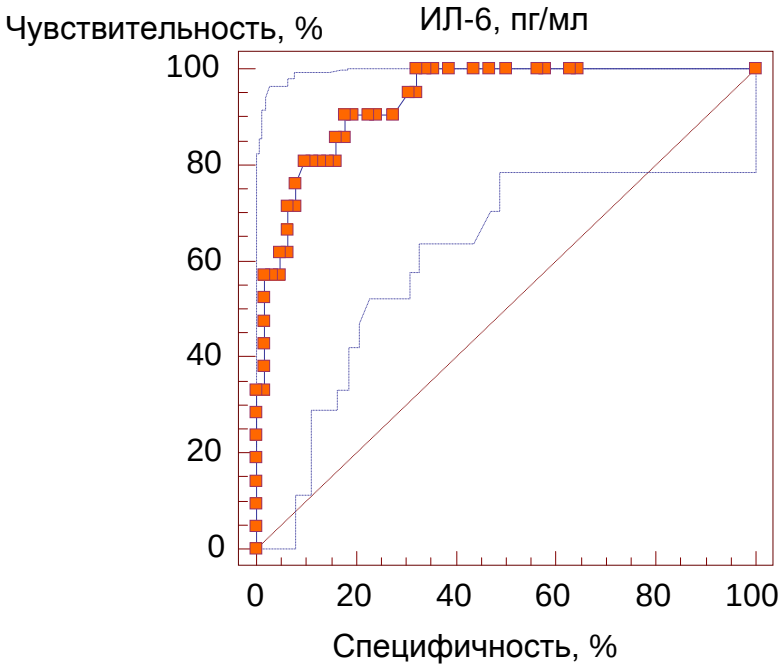

Рис. 27. ROC-кривая для интерлейкина-6.

Площадь ROC-кривой для Г-КСФ, как предиктора ЦП составила AUC 0,92±0,03 (доверительный интервал 0,81-0,97), p<0,001 (рис. 28). Индекс Юдена для данного показателя равнялся 0,72. Оптимальное пороговое значение Г-КСФ для дифференциации стадии F4 от F1-3 – 14,8 пг/мл при чувствительности – 93,7% и специфичности – 78,4%.

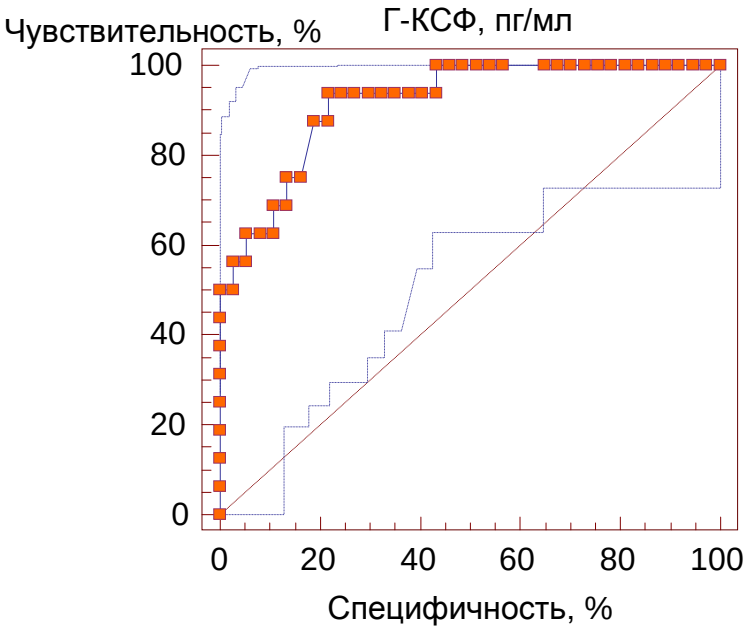

Рис. 28. ROC-кривая для гранулоцитарного колониестимулирующего фактора.

Таким образом, ЦП в исходе ХГС диагностируется при сывороточной концентрации АФП более 5,13 МЕ/мл, уровне ИЛ-6 более 4,4 пг/мл и значении Г-КСФ более 14,8 пг/мл. Причем, данные предикторы можно использовать, как по отдельности, так и в совокупности для увеличения предсказательной ценности в отношении верификации перехода ХГ в цирроз.

Резюме

Определены точки разделения для ГК с целью дифференциации стадий ФП. На модели ХГС предложено уравнение множественной регрессии, позволяющее прогнозировать стадию фиброза по трем параметрам: тромбоциты, альбумин и ФНО-α, которые демонстрировали сильную корреляционную связь с плотностью печени. Формула для его расчета имеет вид: ИФ=3,79-0,0056×ТР+0,0855×ФНО-α-0,0352×АЛЬБУМИН. Диагностическая чувствительность данной математической модели составила 93,3%, специфичность – 83%, стоимость - 450-500 руб.

Для возможности индивидуального использования значимых предикторов ФП были построены графики ROC кривых для тромбоцитов, альбумина и ФНО-α. Данные лабораторные маркеры позволяют исключить фиброз при ХГ при количестве тромбоцитов в крови более или равном 282×10^9/л, уровне альбумина более или равном 47,3 г/л и значении ФНО-α менее или равном 1,9 пг/мл, а также дифференцировать стадии умеренного (F1-2) и выраженного фиброза (F3-4).

В рамках данного исследования была установлена корреляционная связь темпа прогрессирования фиброза с ГК и глюкозой, имеющих хорошую предсказательную ценность для прогнозирования СРФ. Высокий темп прогрессирования фиброза прогнозируется при концентрации ГК в крови более 40,4 нг/мл, уровне АФП более 2,14 МЕ/мл значении глюкозы менее 4,1 ммоль/л при чувствительности - 97,1%, 94,4% и 100%, специфичности – 87%, 78,1% и 85,7% соответственно.

Хорошую предсказательную ценность для диагностики перехода ХГ в ЦП показали АФП при сывороточной концентрации более 5,13 МЕ/мл, ИЛ-6 при уровне более 4,4 пг/мл и Г-КСФ при значении более 14,8 пг/мл.

ГЛАВА 6. ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ *HAS1* (G/A), *CAT* (G262A), *GPX4* (C718T), *ApoB* (R3500Q), *IL28B* (C/T), *IL17F* (C11139G) и *VEGFA* (G-634C) НА ТЯЖЕСТЬ ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ

Учитывая значимый эффект вирусного поражения на фиброгенез в печени, а также возможность использования специфической терапии на обратное развитие ФП, нами проведено исследование, направленное на выявление полиморфизмов генов, ответственных за хронизацию и прогрессирование вирусного процесса.

В настоящем исследовании мы сравнили наличие однонуклеотидной замены в генах гиалуроновой кислоты *HAS1* (G/A), каталазы *CAT* (G262A), глутатион-пероксидазы *GPX4* (C718T), аполипопротиена-В *ApoB* (R3500Q), интерлейкина-28В *IL28B* (C/T), интерлейкина-17 *IL17F* (C11139G) и васкулоэндотелиального фактора роста *VEGFA* (G-634C) у 50 доноров без хронических заболеваний печени и 92 пациентов с ХГС в Пермском крае. При этом преследовали следующие цели:

1. Проанализировать распространенность аллельных пар в полиморфных локусах исследуемых генов в группах здоровых доноров и больных ХГ для выявления доминантного (преобладающего) аллеля и генотипа и минорного аллеля. При достоверном увеличении частоты встречаемости минорного аллеля в виде гомозиготы или гетерозиготы у пациентов с ХГС ($p<0,05$) и высокой вероятности развития события (OR $\geq$1,0), данный аллель считался аллелем риска хронизации данного заболевания.
2. Проанализировать распространенность аллельных пар в полиморфных локусах исследуемых генов у больных по гендерному признаку, в зависимости от генотипа вируса, уровня вирусемии и темпов прогрессии ФП. Если в патологической группе наблюдалась достоверно большая частота встречаемости минорного аллеля в виде гомозиготы или гетерозиготы у пациентов с ХГС (при OR $\geq$1,0), то с большой долей вероятности данный аллель в минорной аллельной паре можно считать аллелем риска прогрессирования заболевания, а при наличии ассоциаций минорных аллелей с прогрессированием ФП определять эти аллели,

как «профибротические».

3. Определить зависимости между изучаемыми качественными признаками с целью оценки возможного негативного влияния полиморфизмов изучаемых генов на продукцию исследуемых факторов сыворотки крови (повышение/понижение) по таблице сопряженности (кросстабуляции). То есть, выявить ассоциации аллельных вариаций изучаемых генов с концентрацией определяемых нами патогенетически значимых молекул при ХГС.

4. Провести анализ сочетанного влияния полиморфизмов исследуемых генов на темпы прогрессирования фиброза печени.

6.1. Исследование комбинаций аллельных вариантов исследуемых генов в когортах здоровых лиц и больных хроническим гепатитом в Пермском крае

Соотношение генотипов и аллелей в контрольной группе и в когорте больных ХГС находилось в соответствии с распределением Харди-Вайнберга, что свидетельствует о репрезентативности выборки контрольной группы и корректности определения встречаемости полиморфизмов.

При изучении распространенности генотипов и аллелей полиморфизма гена гиалуроновой кислоты *HAS1* (G/A) нами не было выявлено статистически значимых различий между сравниваемыми группами здоровых и больных ХГС в Пермском крае. В исследуемых группах здоровых и больных преобладал генотип GG в 81,93 и 78,13% ($\chi2=1,12$; $p=0,53$; QR=0,79) и доминантный аллель G в 90,96 и 88,54% соответственно ($\chi2=0,56$; $p=0,45$; QR=0,77). Гомозигота AA в популяции доноров не встречалась, а у больных была обнаружена в 1% случаев ($\chi2=0,54$; $p=0,32$; QR=1,30). Достоверных различий в частоте встречаемости минорного A гена *HAS1* (G/A) в исследуемых группах также не было найдено (9,04% и 11,46%; $\chi2=0,56$; $p=0,45$) (рис. 29).

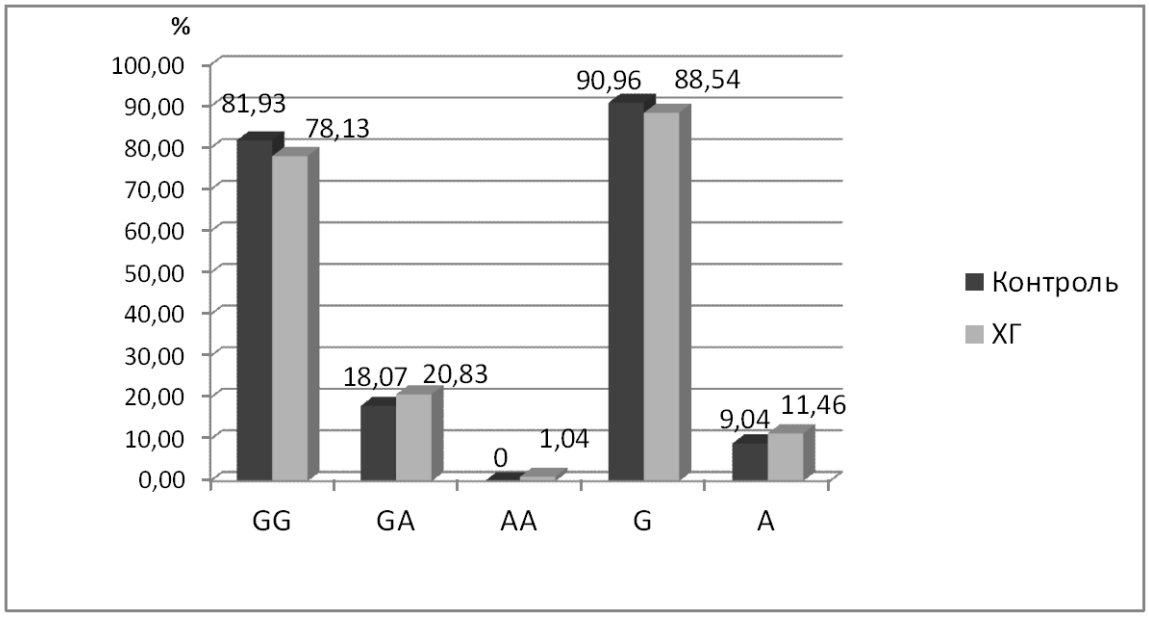

Рис. 29. Частота обнаружения аллельных пар в полиморфных локусах гена *HAS1* (G/A) в анализируемых когортах здоровых и больных.

Как следует из данных рисунка 30, в анализируемых когортах здоровых и больных при исследовании полиморфизма гена каталазы *CAT* (G262A) в позиции rs1001179 практически с одинаковой частотой выявлялась гомозигота GG в 60 и 64,58 % ($\chi2$=2,29; p=0,65; QR=1,22).

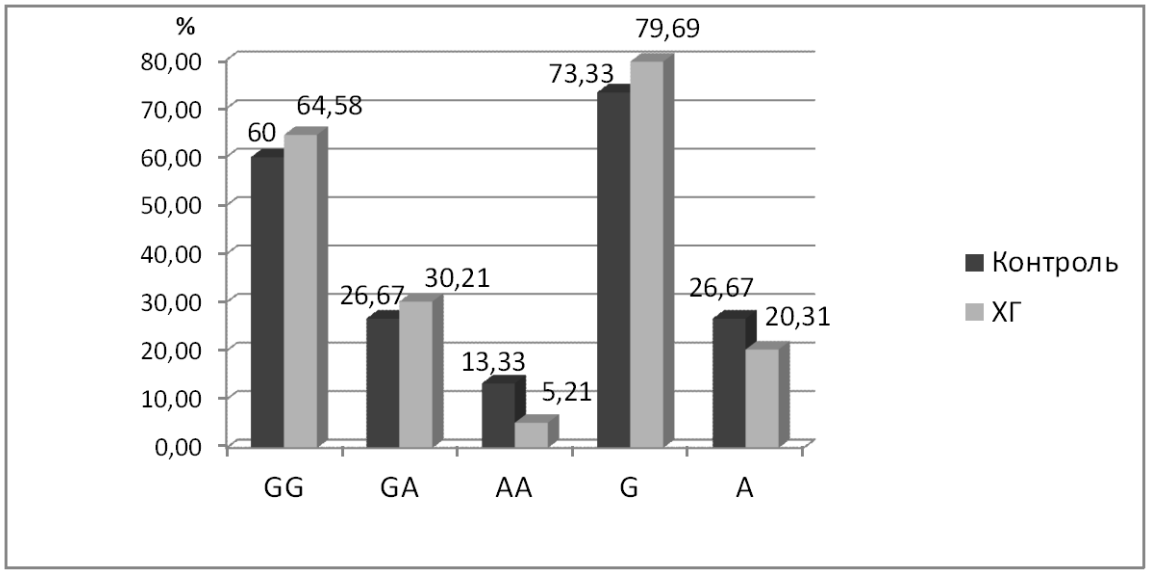

Рис. 30. Частота обнаружения аллельных пар в полиморфных локусах гена *CAT* (G262A) в анализируемых когортах здоровых и больных.

Генотип GA у здоровых и больных ХГС был найден в 26,67 и 30,21% соответственно ($\chi2$=1,24; p=0,71; QR=1,19). Достоверных различий в частоте

встречаемости доминантного аллеля G ($\chi2$=1,08; p=0,32) и минорного A ($\chi2$=1,08; p=0,32) гена *CAT* (G262A) в исследуемых группах не было обнаружено (рис. 30).

При изучении комбинаций аллельных вариантов гена глутатион-пероксидазы 4 *GPX4* (C718T) в позиции rs713041 в исследуемых группах здоровых и больных преобладал генотип CC в 38,75 и 38,54% ($\chi2$=0,07; p=0,98; QR=0,99) и аллель C в 62,5 и 63,02% соответственно ($\chi2$=0,01; p=0,92; QR=1,02). Генотип CT выявлялся в обеих когортах почти с одинаковой частотой в 47,5 и 48,95% ($\chi2$=0,3; p=0,85; QR=1,06). Достоверных различий частоты обнаружения гомозиготы TT (13,75% и 12,5% соответственно; $\chi2$=0,03; p=0,81; QR=0,98) и минорного аллеля T (37,5% и 36,98%; $\chi2$=0,01; p=0,92; QR=0,90) гена *GPX4* (C718T) в исследуемых группах также не было нами найдено (рис. 31).

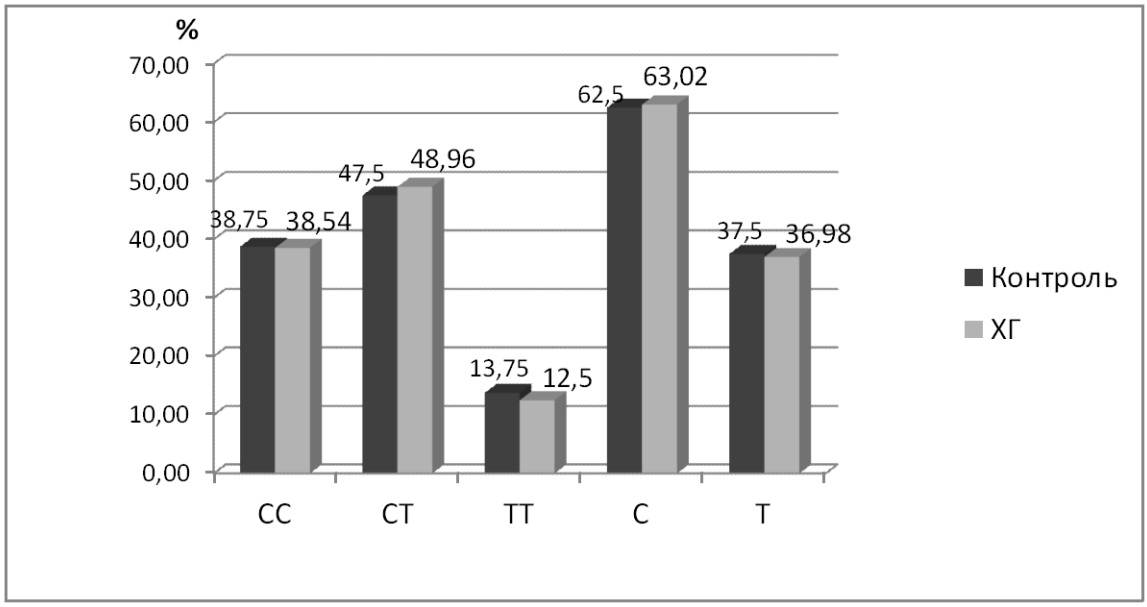

Рис. 31. Частота обнаружения аллельных пар в полиморфных локусах гена *GPX4* (C718T) в анализируемых когортах здоровых и больных.

При исследовании полиморфизмов гена *ApoB* (R3500Q) в позиции rs5742904 и гена интерлейкина *IL17F* (C11139G) в позиции rs612242 у здоровых доноров и больных ХГС в 100% случаев были выявлены генотипы GG и CC соответственно (рис. 32).

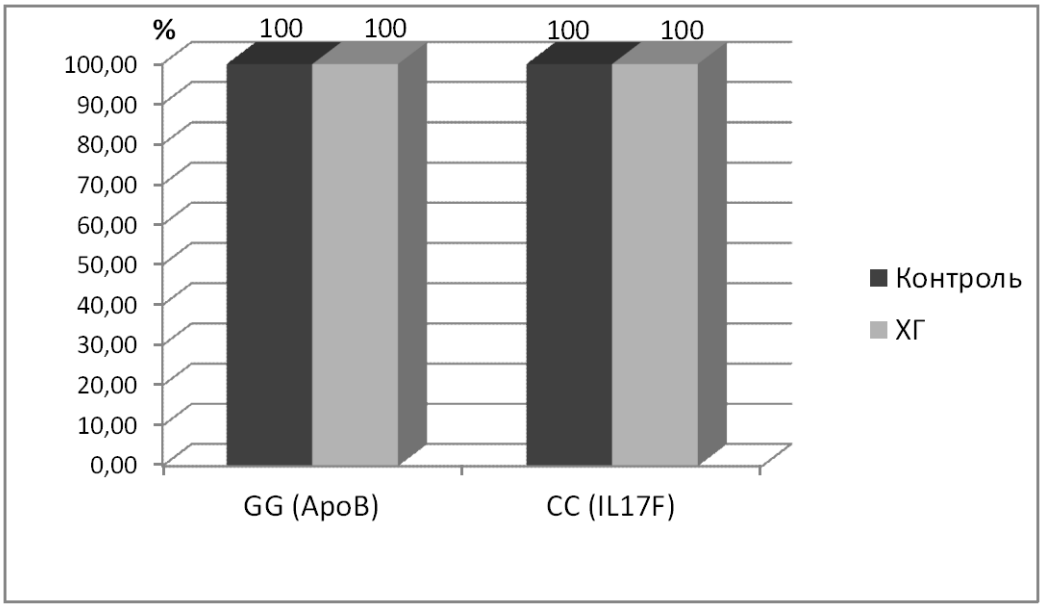

Рис. 32. Частота обнаружения аллельных генов *ApoB* (R3500Q) и *IL17F* (C11139G) в анализируемых когортах здоровых и больных.

При изучении распространенности генотипов и аллелей полиморфизма гена интерлейкина *IL28B* (C/T) в позиции rs12979860 нами не выявлено статистически значимых различий между сравниваемыми группами здоровых и больных ХГС в Пермском крае. В обеих когортах преобладал генотип CT в 51,85 и 55,21% соответственно ($\chi 2$=0,48; p=0,43; QR=1,15) и доминантный аллель C в 68,07 и 64,06% ($\chi 2$=0,64; p=0,45; QR=0,84). (рис. 33).

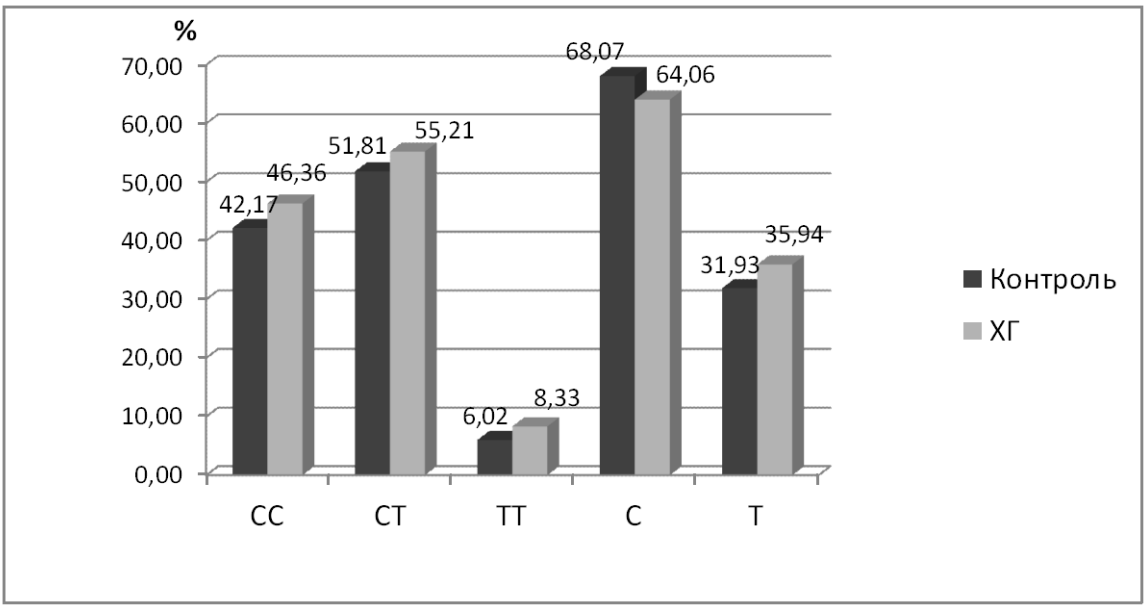

Рис. 33. Частота обнаружения аллельных пар в полиморфных локусах гена *IL28B* (C/T) в анализируемых когортах здоровых и больных.

Достоверных различий в частоте встречаемости генотипа TT (6,02% и 8,33%; $\chi2$=0,35; p=0,55; QR=1,42) и минорного аллеля T (31,93% и 35,94%; $\chi2$=0,64; p=0,43; QR=1,20) гена *IL28B* (C/T) в исследуемых группах доноров и пациентов с ХГС также не было найдено.

При изучении комбинаций аллельных вариантов гена васкулоэндотелиального фактора роста *VEGFA* (G-634C) в позиции rs2010963 у здоровых преобладал генотип GC в 57,58% ($\chi2$=6,4; p=0,04). При этом, гомозигота CC была найдена только в группе пациентов с ХГС в 12,5% с высокой вероятностью (QR=1,15), а в популяции здоровых не обнаруживалась ($\chi2$=4,55; p=0,001). Достоверных различий в частоте встречаемости минорного аллеля C гена *VEGFA* (G-634C) в исследуемых группах не было найдено (28,79% и 31,77%; $\chi2$=0,20; p=0,65; QR=1,14) (рис. 34).

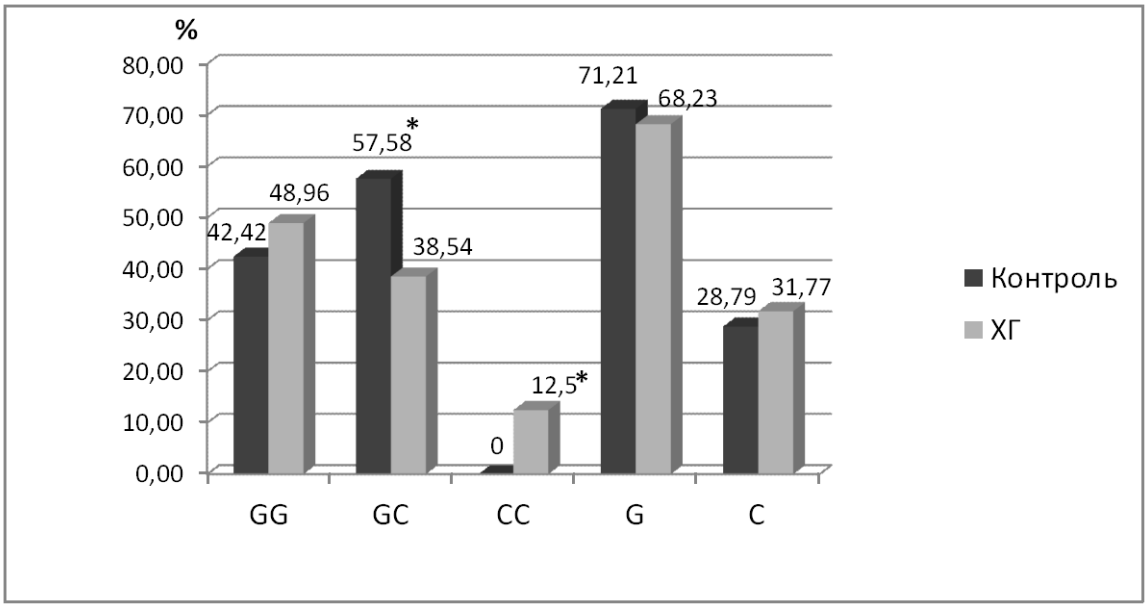

Рис. 34. Частота обнаружения аллельных пар в полиморфных локусах гена *VEGFA* (G-634C) в анализируемых когортах здоровых и больных, p<0,05.

Таким образом, в плане прогнозирования предрасположенности к хронизации гепатита C значимо носительство аллеля риска C в локусе гена *VEGFA* (G-634C) в виде гомозиготы CC.

6.2. Особенности встречаемости полиморфизмов генов в зависимости от пола больных, генотипа вируса и уровня вирусемии

В работе была проанализирована частота встречаемости полиморфизма генов *HAS1* (G/A), *CAT* (G262A), *GPX4* (C718T), *IL28B* (C/T) и *VEGFA* (G-634C) у 92 больных ХГС по гендерному признаку: у 43 (46,7%) мужчин и 49 (53,3%) женщин.

Статистически значимые различия в группах мужчин и женщин были получены для аллельных вариаций гена *VEGFA* (G-634C). Доминантный генотип GG достоверно чаще (в 1,4 раза, $\chi 2=2,34$; p=0,04; QR=0,53) встречался у женщин в 55,1%; гетерозигота GC с высокой вероятностью чаще (в 1,4 раза, $\chi 2=2,22$; p=0,04; QR=1,79) встречалась у мужчин в 46,51% по рецессивной модели наследования (рис. 35).

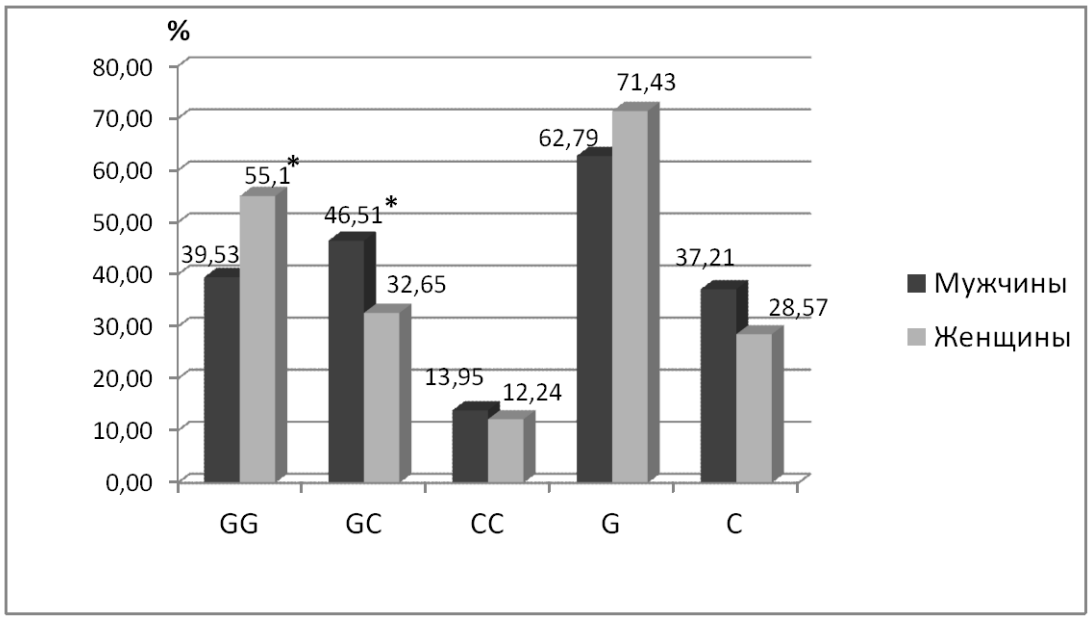

Рис. 35. Частота обнаружения аллельных пар в полиморфных локусах гена *VEGFA* (G-634C) в анализируемых когортах мужчин и женщин, p<0,05.

То есть, имеется ассоциация аллели С в виде генотипа GC гена *VEGFA* (G-634C) с мужским полом.

Различий в частоте встречаемости аллельных вариаций генов *HAS1* (G/A), *GPX4* (C718T), *CAT* (G262A) и *IL28B* (C/T) по гендерному признаку у больных не выявлено (таблица 42).

Таблица 42

Частота встречаемости аллельных вариантов исследуемых генов у мужчин и женщин с ХГ

Генотип/аллели генов		**Мужчины (n=43) %±m**	**Женщины (n=49) %±m**	**QR (95%Cl)**	**p**
***HAS1* (G/A)**	GG,%	81,4±5,93	77,55±5,96	1,27 (0,46 – 3,51)	0,65
	GA,%	18,6±5,93	20,41±5,76	0,89 (0,32 – 2,51)	0,83
	AA,%	0±0	2,04±2,02	0,00 (0,00 – 0,00)	0,32
GA+AA, %		18,6	22,45	0,79 (0,28 – 2,19)	0,64
Аллели	G-аллель,%	90,7±3,13	87,76±3,31	1,36 (0,53 – 3,5)	0,52
	A-аллель,%	9,3±3,13	12,24±3,31	0,74 (0,29 – 1,89)	0,52
***CAT* (G262A)**	GG,%	55,81±7,57	69,39±6,58	0,56 (0,24 – 1,31)	0,18
	GA,%	37,21±7,37	26,53±6,31	1,64 (0,68 – 3,98)	0,28
	AA,%	6,98±3,89	4,08±2,83	1,76 (0,28 -11,08)	0,55
GA+AA, %		44,24	30,61	1,79 (0,76 – 4,22)	0,17
Аллели	G-аллель,%	74,42±4,7	82,65±3,83	0,61 (0,3 – 1,25)	0,18
	A-аллель,%	25,58±4,7	17,35±3,83	1,64 (0,8 – 3,34)	0,18
***GPX4* (C718T)**	CC,%	39,53±7,46	36,73±6,89	1,13 (0,48 – 2,62)	0,78
	CT,%	48,84±7,62	48,98±7,14	0,99 (0,44 – 2,26)	0,99
	TT,%	11,63±4,89	14,29±5	0,79 (0,23 – 2,7)	0,71
CT+TT, %		60,47	63,27	0,89 (0,38 – 2,06)	0,78
Аллели	C-аллель,%	63,95±5,18	61,22±4,92	1,12 (0,62 – 2,05)	0,70
	T-аллель,%	36,05±5,18	38,78±4,92	0,89 (0,49 – 1,62)	0,70
***IL28B* (C/T)**	CC,%	39,53±7,46	34,69±6,8	1,23 (0,53 – 2,87)	0,63
	CT,%	55,81±7,57	53,06±7,13	1,12 (0,49 – 2,54)	0,79
	TT,%	4,65±3,21	12,24±4,68	0,35 (0,07 – 1,83)	0,19
CT+TT, %		60,46	65,3	0,81 (0,35 – 1,9)	0,63
Аллели	C-аллель,%	67,44±5,05	61,22±4,92	1,31 (0,71 – 2,41)	0,38
	T-аллель,%	32,56±5,05	38,78±4,92	0,76 (0,42 – 1,4)	0,38
***VEGFA* (G-634C)**	GG,%	39,53±7,46	55,1±7,11	0,53 (0,23 – 1,22)	**0,04**
	GC,%	46,51±7,61	32,65±6,7	1,79 (0,77 – 4,18)	**0,04**
	CC,%	13,95±5,28	12,24±4,68	1,16 (0,35 – 3,91)	0,81
GC+CC, %		60,46	44,89	1,88 (0,82 – 4,31)	**0,03**
Аллели	G-аллель,%	62,79±5,21	71,43±4,56	0,68 (0,36 – 1,25)	0,22
	C-аллель,%	37,21±5,21	28,57±4,56	1,48 (0,8 – 2,75)	0,22

Нами была проанализирована частота встречаемости полиморфизмов генов гиалуроновой кислоты по локусу (G/A), каталазы в локусе (G262A), ГЛП (C718T), интерлейкина 28B по локусу (C/T) и васкулоэндотелиального фактора роста в

локусе (G-634C) в группах больных ХГС в зависимости от генотипов вируса. Из 92 пациентов 45 (49,4%) человек имели генотип HCV-1, 47 (50,6%) больных – HCV-2 и HCV-3 (6,8% и 43,8% соответственно).

Однонуклеотидный полиморфизм в промоторной части в положении (C/T) влияет на экспрессию гена *IL28B.* При сравнении встречаемости различных аллельных вариаций гена *IL28B* (C/T) в группах с разными генотипами были получены статистически значимые различия частоты обнаружения гомозиготы CC: в группе больных с HCV-2 и HCV-3 эта гомозигота встречалась в 1,85 раз чаще у 46,51%, чем у пациентов с HCV-1 в 25% ($\chi2$=4,16; p=0,04; QR=1,38). Генотип CT с высокой вероятностью ($\chi2$=4,15; p=0,04; QR=2,14) был обнаружен у больных с HCV-1 в 65% с наследованием по рецессивному типу (рис. 36).

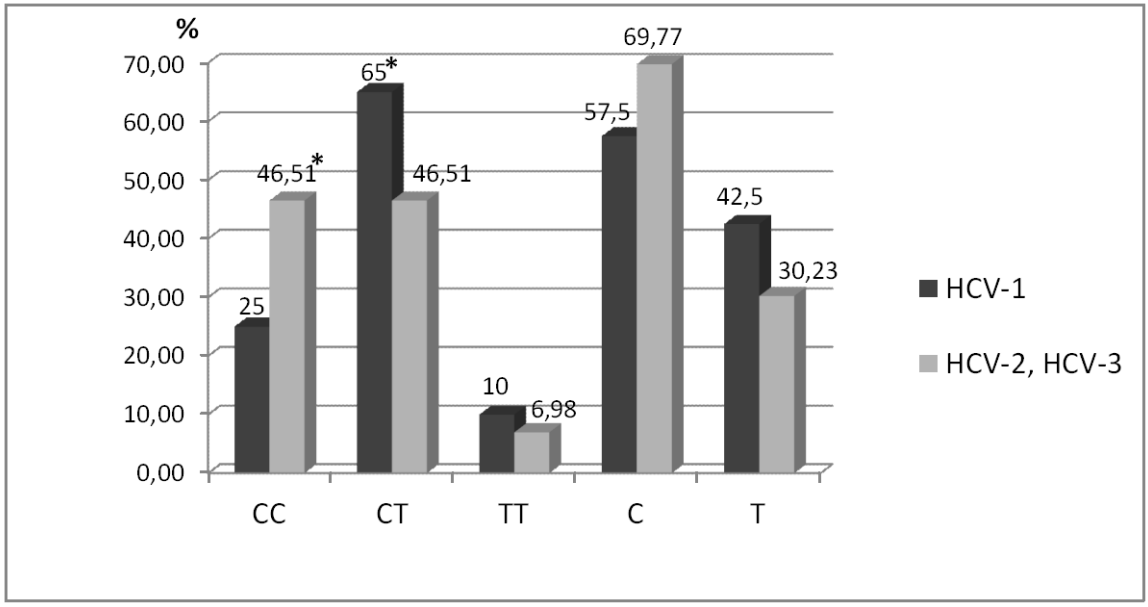

Рис. 36. Встречаемость аллельных вариаций гена *IL28B* (C/T) в группах больных в зависимости от генотипов, p<0,05.

То есть, имеется ассоциация неблагоприятного аллеля T гена *IL28B* (C/T) в позиции rs12979860 в виде гетерозиготы CT с генотипом HCV-1.

Различий в частоте встречаемости аллельных вариаций генов *HAS1* (G/A), *CAT* (G262A), *GPX4* (C718T) и *VEGFA* (G-634C) у больных ХГ в зависимости генотипов не выявлено (таблица 43).

Таблица 43

Частота встречаемости аллельных вариантов исследуемых генов в группах больных ХГ в зависимости от генотипов

Генотип/аллели генов		**HCV-1 (n=45) %±m**	**HCV-2,3 (n=47) %±m**	**QR (95%Cl)**	**p**
***HAS1* (G/A)**	GG,%	81,08±6,44	75±6,85	1,43 (0,48 – 4,25)	0,52
	GA,%	18,92±6,44	25±6,85	0,70 (0,24 – 2,08)	0,52
	AA,%	0±0	0±0	-	0,91
GA+AA, %		18,92	25	0,70 (0,24 – 2,08)	0,52
Аллели	G-аллель,%	90,54±3,4	87,5±3,7	1,37 (0,49 – 3,8)	0,55
	A-аллель,%	9,46±3,4	12,5±3,7	0,73 (0,26 – 2,03)	0,55
***CAT* (G262A)**	GG,%	70±7,25	58,14±7,52	1,68 (0,68 – 4,17)	0,26
	GA,%	27,5±7,06	34,88±7,27	0,71 (0,28 – 1,8)	0,47
	AA,%	2,5±2,47	6,98±3,89	0,34 (0,03 – 3,43)	0,34
GA+AA, %		30	41,86	0,60 (0,24 – 1,48)	0,26
Аллели	G-аллель,%	83,75±4,12	75,58±4,63	1,67 (0,77 – 3,6)	0,19
	A-аллель,%	16,25±4,12	24,42±4,63	0,60 (0,28 – 1,3)	0,19
***GPX4* (C718T)**	CC,%	41,03±7,88	43,9±7,75	0,89 (0,37 – 2,16)	0,80
	CT,%	48,72±8	46,34±7,79	1,1 (0,46 – 2,65)	0,83
	TT,%	10,26±4,86	9,76±4,63	1,06 (0,25 – 4,56)	0,94
CT+TT, %		58,98	56,1	1,13 (0,46 – 2,73)	0,79
Аллели	C-аллель,%	65,38±5,39	67,07±5,19	0,93 (0,48 – 1,79)	0,82
	T-аллель,%	34,62±5,39	32,93±5,19	1,08 (0,56 – 2,08)	0,82
***IL28B* (C/T)**	CC,%	25±6,85	46,51±7,61	0,38 (0,15 – 0,97)	**0,04**
	CT,%	65±7,54	46,51±7,61	2,14 (0,88 – 5,17)	**0,04**
	TT,%	10±4,74	6,98±3,89	1,48 (0,31 – 7,07)	0,63
CT+TT, %		75	53,49	2,61 (1,03 – 6,63)	**0,04**
Аллели	C-аллель,%	57,5±5,53	69,77±4,95	0,59 (0,31 – 1,11)	0,11
	T-аллель,%	42,5±5,53	30,23±4,95	1,71 (0,9 – 3,23)	0,11
***VEGFA* (G-634C)**	GG,%	44,74±8,07	56,82±7,47	0,62 (0,26 – 1,48)	0,28
	GC,%	39,47±7,93	34,09±7,15	1,26 (0,51 – 3,1)	0,39
	CC,%	15,79±5,92	9,09±4,33	1,88 (0,49 – 7,22)	0,37
GC+CC, %		55,26	43,18	1,63 (0,68 – 3,9)	
Аллели	G-аллель,%	64,47±5,49	73,86±4,68	0,64 (0,33 – 1,25)	0,20
	C-аллель,%	35,53±5,49	26,14±4,68	1,56 (0,8 – 3,04)	0,20

Таким образом, при изучении частоты встречаемости аллельных вариантов изучаемых генов в зависимости от генотипов вируса у больных ХГС найдена ассоциация неблагоприятного аллеля Т гена IL28B (C/T) с генотипом HCV-1.

Далее в исследовании была проанализирована частота встречаемости полиморфизмов генов *CAT* (G262A), *CPX4* (C718T), *IL28B* (C/T) и *VEGFA* (G-634C) у больных с разным уровнем вирусемии. Из 92 пациентов с ХГС 29 человек (31,5%) имели низкую ВН (медиана – $0{,}92 \times 10^6$ копий/мл), 63 больных (68,5%) – высокий уровень вирусемии (медиана – $5{,}65 \times 10^6$ копий/мл (p=0,01).

Статистически значимые различия в группах в группах больных с разной ВН получены для аллельных вариаций гена *CAT* (G262A). Доминантный генотип GG достоверно чаще (в 1,32 раза, $\chi 2=2{,}90$; p=0,02; QR=1,43) встречался в группе с низкой вирусемией у 75,86% по сравнению с высокой у 57,58%; гетерозигота GA с высокой вероятностью чаще (в 1,75 раз, $\chi 2=3{,}12$; p=0,04; QR=2,19) была найдена у 36,36% пациентов с высокой ВН, у 20,69% больных с низким уровнем вирусемии по рецессивной модели наследования. Отмечалось достоверное увеличение частоты обнаружения минорного аллеля А исследуемого гена (в 1,8 раз, $\chi 2=2{,}65$; p=0,04; QR=2,0) у 24,24% больных с высокой ВН с высокой степенью вероятности в сравнении с встречаемостью при низкой вирусемии в 13,79% по мультипликативной модели наследования (рис. 37).

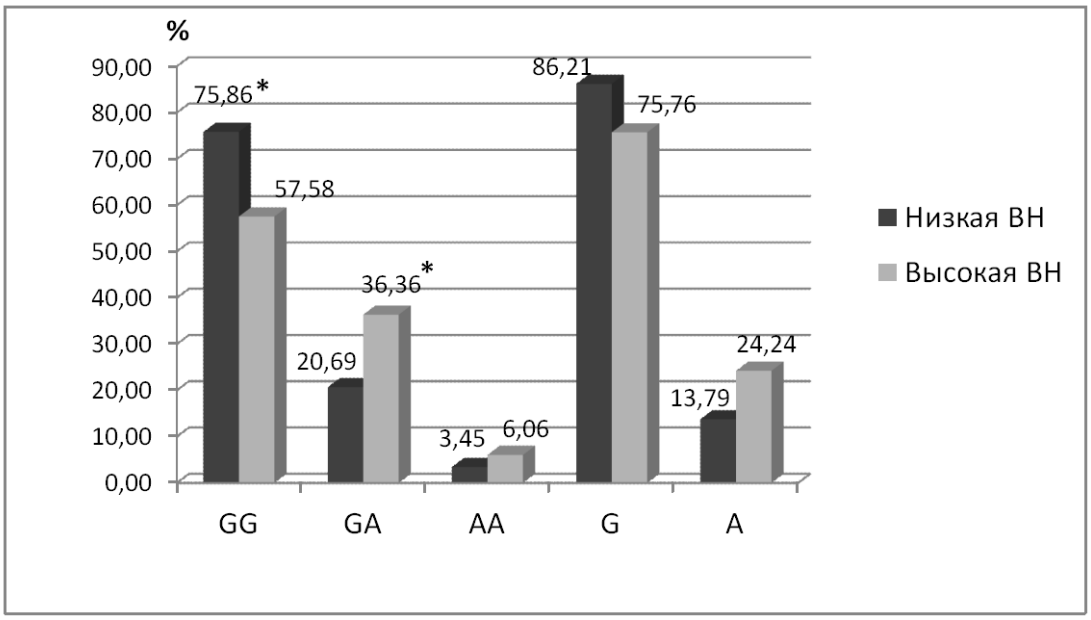

Рис. 37. Различия в частотах встречаемости генотипов и аллелей в полиморфных локусах гена *CAT* (G262A) в группах больных ХГ с разной вирусемией, p<0,05.

При сравнении встречаемости аллельных вариаций гена *GPX4* (C718T) в группах больных с разной репликативной активностью вируса были получены

статистически значимые различия частоты встречаемости генотипа CT. При высокой вирусемии этот генотип в 53,03% встречался в 1,6 раз чаще, чем при низкой ВН у 34,48% ($\chi2$=6,17; p=0,04; QR=2,15) по общей модели наследования. Отмечалось достоверное увеличение частоты встречаемости минорного аллеля T исследуемого гена у 41,67% в 1,7 раз ($\chi2$=5,35; p=0,02; QR=2,24) в группе больных с высокой ВН в сравнении с низким уровнем вирусемии у 24,1% по мультипликативной модели наследования. Доминантный аллель C, наоборот, чаще регистрировался у 58,62% пациентов с низкой ВН (в 1,3 раза, $\chi2$=5,35; p=0,02; QR=1,45) в сравнении с больными с высоким уровнем вирусемии в 31,82% (рис. 38).

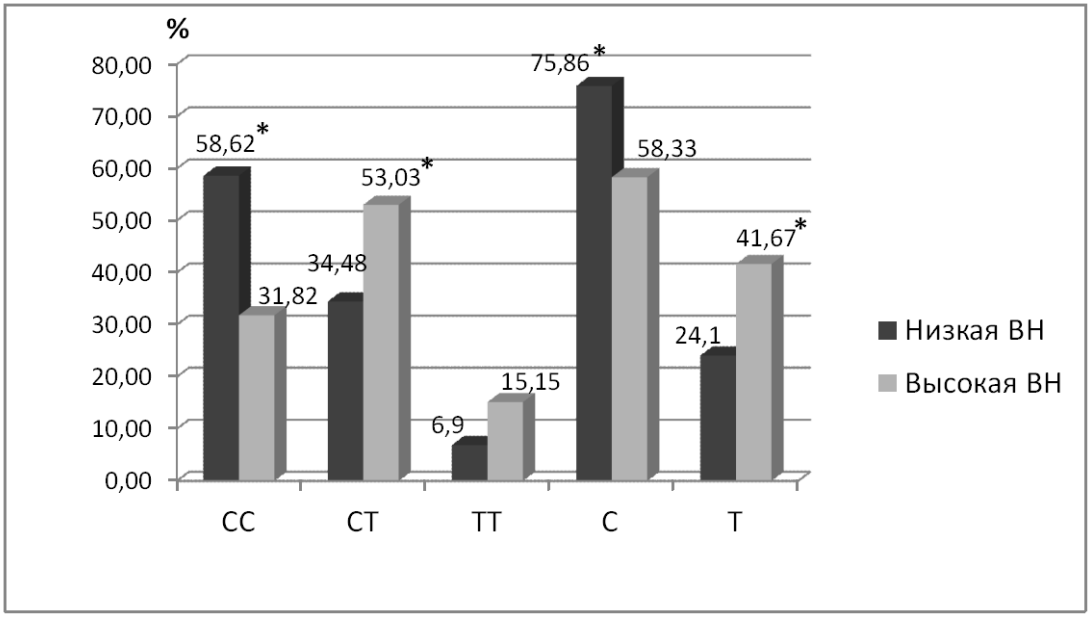

Рис. 38. Различия в частотах встречаемости генотипов и аллелей в полиморфных локусах гена *GPX4* (C718T) в группах больных ХГ с разной вирусной нагрузкой, p<0,05.

Ассоциации между различными аллельными вариациями полиморфных локусов генов *IL28B* (C/T) и *VEGFA* (G-634C) с уровнем ВН не было найдено (таблица 44).

Таблица 44

Частота встречаемости аллельных вариантов исследуемых генов в группах больных ХГ с низкой и высокой вирусной нагрузкой

Генотип/аллели генов		**Низкая ВН (n=29) %±m**	**Высокая ВН (n=63) %±m**	**QR (95%Cl)**	**p**
***CAT* (G262A)**	GG,%	75,86±7,95	57,58±6,08	0,43 (0,16 1,15)	**0,02**
	GA,%	20,69±7,52	36,36±5,92	2.19 (0,78 – 6,13)	**0,04**
	AA,%	3,45±3,39	6,06±2,94	1,81 (0,19 -16,91)	0,56
GA+AA, %		24,14	42,42	2,32 (0,87 – 6,17)	**0,02**
Аллели	G-аллель,%	86,21±4,53	75,76±3,73	0,50 (0,21 – 1,16)	**0,04**
	A-аллель,%	13,79±4,53	24,24±3,73	2,00 (0,86 – 4,66)	**0,04**
***GPX4* (C718T)**	CC,%	58,62±9,15	31,82±5,73	0,33 (0,13 0,81)	**0,02**
	CT,%	34,48±8,83	53,03±6,14	2,15 (0,87 – 5,31)	**0,04**
	TT,%	6,9±4,71	15,15±4,41	2,41 (0,49 – 11,78)	0,21
CT+TT, %		41,38	68,18	3,04 (1,23 – 7,48)	**0,01**
Аллели	C-аллель,%	75,86±5,62	58,33±4,29	0,45 (0,22 – 0,89)	**0,02**
	T-аллель,%	24,14±5,62	41,67±4,29	2,24 (1,12 – 4,49)	**0,02**
***IL28B* (C/T)**	CC,%	37,93±9,01	40,91±6,05	1,13 (0,46 – 2,78)	0,78
	CT,%	51,72±9,28	57,58±6,08	1,27 (0,53 – 3,04)	0,60
	TT,%	10,34±5,65	1,52±1,51	0,13 (0,01 – 1,34)	0,14
CT+TT, %		62,06	56,1	0,88 (0,36 – 2,16)	0,78
Аллели	C-аллель,%	63,79±6,31	69,7±4	1,31 (0,68 – 2,5)	0,43
	T-аллель,%	36,21±6,31	30,3±4	0,77 (0,4 – 1,47)	0,43
***VEGFA* (G-634C)**	GG,%	51,72±9,28	50,79±6,3	0,96 (0,4 – 2,32)	0,93
	GC,%	34,48±8,83	42,86±6,23	1,43 (0,57 – 3,55)	0,44
	CC,%	13,79±6,4	6,35±3,07	0,42 (0,1 – 1,83)	0,30
GC+CC, %		48,27	49,21	1,04 (0,43 – 2,5)	0,93
Аллели	G-аллель,%	68,97±6,07	72,22±3,99	1,17 (0,59 – 2,31)	0,66
	C-аллель,%	31,03±6,07	27,78±3,99	0,85 (0,43 – 1,69)	0,66

Таким образом, выявлены ассоциации аллеля А гена *CAT* (G262A) и аллеля Т гена *GPX4* (C718T) с высокой репликативной активностью вируса, что вероятно повышает риск прогрессирования ХГС.

6.3. Влияние полиморфизмов изучаемых генов на скорость развития фиброза

В представленной работе была проанализирована частота встречаемости полиморфизмов генов *HAS1* (G/A), *CAT* (G262A), *GPX4* (C718T), *IL28B* (C/T) и *VEGFA* (G-634C) в группах больных ХГС в зависимости от СРФ. Для сравнительного анализа влияния полиморфизмов изучаемых генов на СРФ больные были разделены на две группы в зависимости от темпа прогрессирования заболевания. В I группу (52%) вошли пациенты с медленно прогрессирующим течением заболевания при давности инфицирования более 10 лет. Во II группу (48%) были включены больные с быстро прогрессирующим течением ХГС при длительности заболевания менее 10 лет.

При сравнении встречаемости различных аллельных вариаций гена *CAT* (G262A) были получены статистически значимые различия встречаемости доминантного генотипа GG и аллеля G между группами с медленным и быстрым темпом прогрессирования заболевания. При медленной СРФ генотип GG встречался у 71,43% в 1,47 раз чаще ($\chi2$=5,01; p=0,03; QR=1,38), а аллель G у 83,93% в 1,2 раза чаще ($\chi2$=4,92; p=0,04; QR=1,45), чем при быстром темпе прогрессии ФП – 48,65 и 70,27% соответственно (рис. 39).

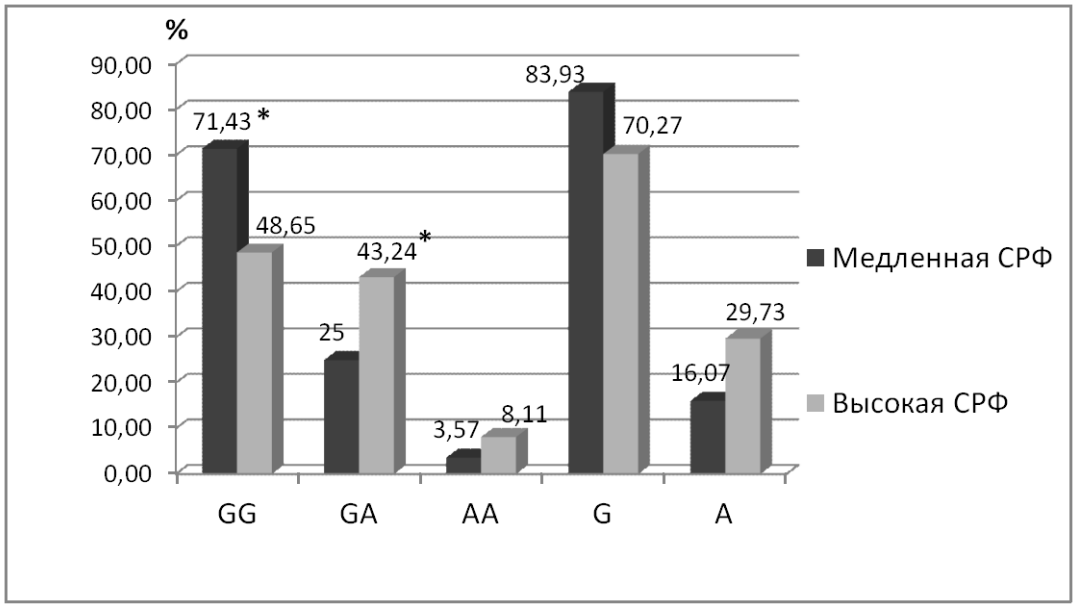

Рис. 39. Различия в частотах встречаемости генотипов и аллелей гена *CAT* (G262A) у больных ХГ в зависимости от скорости развития фиброза, p<0,05.

Генотип GA и так называемый «профиброгенный» аллель A с высокой вероятностью чаще определялись у пациентов с высокой СРФ в 1,73 раза ($\chi2$=4,93; p=0,04; QR=2,29) и в 1,86 раз ($\chi2$=4,92; p=0,04; QR=2,21) в 43,24 и 29,73% соответственно, чем при медленном темпе прогрессирования заболевания (25 и 16,07% соответственно) по рецессивной модели наследования (рис. 39).

При анализе ОНП гена *GPX4* (C718T) генотип CT при быстром темпе прогрессирования заболевания встречался в 1,42 раза чаще ($\chi2$=3,56; p=0,04; QR=1,97), чем у пациентов с медленной СРФ по рецессивной модели наследования (в 56,76% и 40% соответственно) (рис. 40).

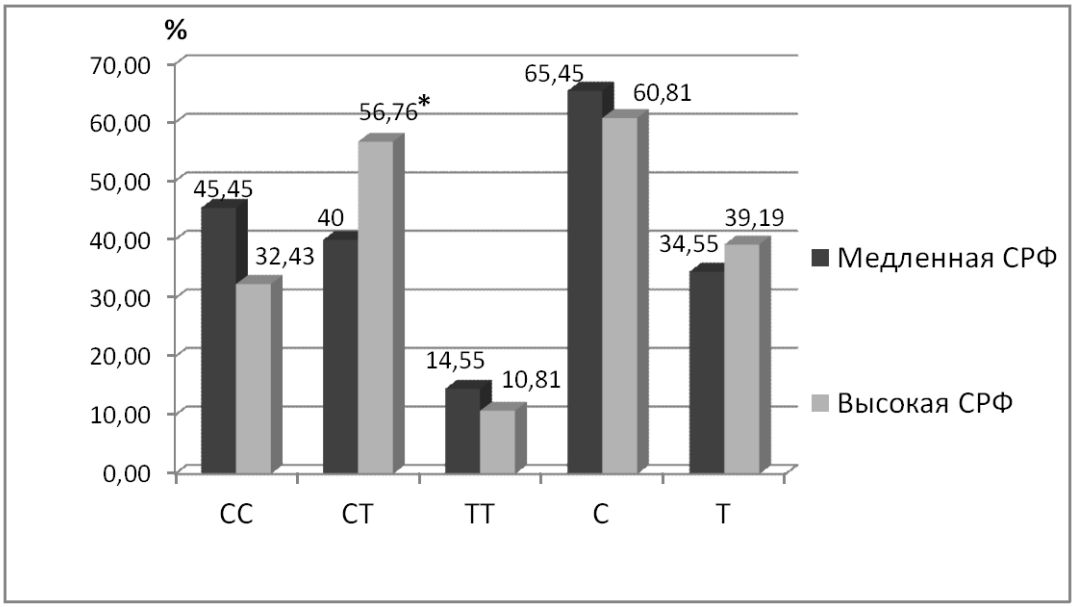

Рис. 40. Различия в частотах встречаемости генотипов и аллелей гена *GPX4* (C718T) у больных ХГ в зависимости от скорости развития фиброза, p<0,05).

Ассоциаций между различными аллельными вариациями полиморфных локусов генов *HAS1* (G/A), *IL28B* (C/T) и *VEGFA* (G-634C) с темпами прогрессии ФП не было выявлено (таблица 45).

Таблица 45

Частота встречаемости аллельных вариантов исследуемых генов в группах больных ХГ в зависимости от скорости развития фиброза

Генотип/аллели генов		**Медленная СРФ (n=56) %±m**	**Высокая СРФ (n=36) %±m**	**QR (95%Cl)**	**p**
***HAS1* (G/A)**	GG,%	78,57±5,48	81,08±6,44	1,17 (0,41 – 3,31)	0,77
	GA,%	19,64±5,31	18,92±6,44	0,95 (0,33 – 2,74)	0,93
	AA,%	1,79±1,77	0±0	0,86 (0,3 – 2,42)	0,32
GA+AA, %		21,43	18,92	0,86 (0,3 – 2,42)	0,76
Аллели	G-аллель,%	88,39±3,03	90,54±3,4	1,26 (0,48 – 3,31)	0,64
	A-аллель,%	11,61±3,03	9,46±3,4	0,80 (0,3 – 2,1)	0,64
***CAT* (G262A)**	GG,%	71,43±6,04	48,65±8,22	0,38 (0,16 – 0,9)	**0,03**
	GA,%	25±5,79	43,24±8,14	2,29 (0,94 – 5,56)	**0,04**
	AA,%	3,57±2,48	8,11±4,49	2,38 (0,38 – 15)	0,38
GA+AA, %		28,57	51,35	2,64 (1,11 – 6,28)	**0,02**
Аллели	G-аллель,%	83,93±3,47	70,27±5,31	0,45 (0,22 – 0,92)	**0,04**
	A-аллель,%	16,07±3,47	29,73±5,31	2,21 (1,09 – 4,49)	**0,04**
***GPX4* (C718T)**	CC,%	45,45±6,71	32,43±7,7	0,58 (0,24 – 1,37)	0,21
	CT,%	40±6,61	56,76±8,14	1,97 (0,85 – 4,58)	**0,04**
	TT,%	14,55±4,75	10,81±5,1	0,71 (0,2 – 2,56)	0,59
CT+TT, %		54,55	67,57	1,74 (0,73 – 4,14)	0,21
Аллели	C-аллель,%	65,45±4,53	60,81±5,67	0,82 (0,44 – 1,51)	0,53
	T-аллель,%	34,55±4,53	39,19±5,67	1,22 (0,66 – 2,25)	0,53
***IL28B* (C/T)**	CC,%	32,73±6,33	40,54±8,07	1,40 (0,59 – 3,33)	0,45
	CT,%	60±6,61	48,65±8,22	0,63 (0,27 – 1,46)	0,29
	TT,%	7,27±3,5	10,81±5,1	1,55 (0,36 – 6,61)	0,57
CT+TT, %		67,27	59,46	0,71 (0,3 – 1,69)	0,44
Аллели	C-аллель,%	62,73±4,61	64,86±5,55	1,10 (0,59 – 2,03)	0,77
	T-аллель,%	37,27±4,61	35,14±5,55	0,91 (0,49 – 1,68)	0,77
***VEGFA* (G-634C)**	GG,%	53,57±6,66	47,22±8,32	0,78 (0,34 – 1,79)	0,55
	GC,%	33,93±6,33	41,67±8,22	1,39 (0,59 – 3,3)	0,46
	CC,%	12,5±4,42	11,11±5,24	0,88 (0,24 – 3,23)	0,84
GC+CC, %		46,43	52,78	1,29 (0,56 – 2,98)	0,55
Аллели	G-аллель,%	70,54±4,31	68,06±5,49	0,89 (0,47 – 1,69)	0,72
	C-аллель,%	29,46±4,31	31,94±5,49	1,12 (0,59 – 2,13)	0,72

Таким образом, при анализе встречаемости аллельных вариантов изучаемых генов в зависимости от темпа прогрессии фиброза у пациентов с ХГС выявлены ассоциации аллеля гена *CAT* +262A и аллеля гена *GPX4* +718T с увеличением СРФ, что дает основание называть эти аллели «профиброгенными».

6.4. Анализ ассоциации аллельных вариаций генов с выработкой патогенетически значимых факторов

У больных, имеющих генотипы CT и TT гена *IL28B* (C/T) в сравнении с лицами с генотипом CC обнаружены значимо повышенные уровни АЛТ (72 (55; 115) Е/л и 43 (32; 96) Е/л; p=0,01), АСТ (46 (32; 72) Е/л и 31 (25; 48) Е/л; p=0,01), ГК (45,1 (30,9; 90,4) нг/мл и 30,6 (18,6; 42,5) нг/мл; p=0,005), ФНО-α (2,55 (1,5; 4,9) пг/мл и 1,65 (0,9; 2,9) пг/мл; p=0,04), ИЛ-6 (1 (0,2; 4,6) пг/мл и 0,3 (0; 2,5) пг/мл; p=0,04) и достоверно низкая активность каталазы (7,95 (4,7; 13) мкат/л и 11,65 (6,7; 14,7) мкат/л; p=0,04). У пациентов с генотипами GA и AA гена *CAT* (G262A) в сравнении с лицами, имеющими генотип GG, были зарегистрированы более высокие концентрации АФП (2,6 (2; 3,86) МЕ/мл и 1,8 (1,2; 2,8) МЕ/мл; p=0,04), а также достоверно низкие активности ферментов каталазы (6,7 (4,2; 10,6) мкат/л и 11,6 (7,2; 14,5) мкат/л; p=0,03) и ГЛП (6,9 (4,3; 11,2) мкмоль/л и 9,2 (5,1; 14,6) мкмоль/л; p=0,04). Лица с генотипами CT и TT гена GPX4 (C718T) в сравнении с пациентами с генотипами CC имели более высокие уровни АФП (2,7 (1,9; 3,6) МЕ/мл и 1,9 (1; 2,7) МЕ/мл; p=0,04), ИЛ-6 (0,8 (0,3; 6) пг/мл и 0,1 (0; 1,8) пг/мл; p=0,04) и МДА (9,9 (5,7; 11,8) мкмоль/л и 7,3 (3,8; 10,2) мкмоль/л; p=0,03). Больные ХГС с генотипами GA и AA гена *VEGFA (G-634C)* в сравнении с лицами с генотипом GG имели достоверно повышенные значения ВЭФР (389,5 (261; 692,7) пг/мл и 326,2 (206; 509) пг/мл; p=0,03). То есть, полиморфизмы генов *IL28B* (C/T), *CAT* (G262A), *GPX4* (rs713041) и *VEGFA* (G-634C) могут оказывать влияние на продукцию патогенетически значимых факторов, что приводит к активации патологических механизмов и вероятно прогрессированию поражения печени.

Эти данные подтверждаются наличием зависимости между изучаемыми качественными признаками, которое проводилось по таблице сопряженности (кросстабуляции). Обнаружена взаимосвязь полиморфизма гена *IL28B* (C/T) с повышением активности АСТ (p=0,04), гиперпродукцией ГК (p=0,04) и ИЛ-6 (p=0,04), полиморфизма гена *CAT* (G262A) со снижением выработки ферментов каталазы (p=0,005) и ГЛП (p=0,04). Найдены корреляции полиморфизма гена *GPX4* по локусу C718T с гиперпродукцией МДА (p=0,04), что может приводить к

активации процессов пероксидации липидов, усугублению поражения печени и прогрессированию заболевания. При анализе гена *VEGFA* в локусе G-634C наблюдалась взаимосвязь с увеличением выработки ВЭФР (p=0,035), участвующего в активации механизмов сосудистой перестройки, неоангиогенеза, эндотелиальной дисфункции, что стимулирует прогрессирование фиброза.

Это подтверждает нашу гипотезу о возможном негативном влиянии полиморфизмов исследуемых генов на характер течения заболевания и должно учитываться при прогнозировании течения ХГС.

6.5. Исследование сочетанного влияния полиморфизмов исследуемых генов на темпы прогрессии фиброза

Для прогнозирования динамики развития фиброза в зависимости от различных генотипов пациентов по генам *CAT* (G262A), *GPX4* (C718T), *IL28B* (C/T) и *VEGFA* (G-634C) были разработаны две шкалы бальной оценки быстрого развития фиброза.

По одной шкале с появлением у пациента хотя бы одной мутантной аллели риска по этим генам возрастает вероятность быстрого прогрессирования заболевания.

Значение баллов:

0 – пациент имеет две гомозиготные протективные аллели по всем генам *CAT* (GG), *GPX4* (CC), *IL28B* (CC) и *VEGFA* (GG);

1 – гетерозиготен хотя бы по одному из этих генов *CAT* (GA) / *GPX4* (CT) / *IL28B* (CT) или *VEGFA* (GC);

2 – гетерозиготен по двум генам их четырех;

3 – гетерозиготен по трем генам из четырех;

4 – гетерозиготен по всем генам *CAT* (GA), *GPX4* (CT), *IL28B* (CT) и *VEGFA* (GC);

5 – хотя бы по одному гену имеет обе аллели риска прогрессирования *CAT* (AA) / *GPX4* (TT) / *IL28B* (TT) или *VEGFA* (CC);

6 – по двум из четырех генов имеет обе аллели риска;

7 - по двум из четырех генов имеет обе аллели риска;

8 – по всем генам имеет обе аллели риска прогрессирования *CAT* (AA), *GPX4* (TT), *IL28B* (TT) и *VEGFA* (CC) (табл. 46).

Таблица 46

Сумма баллов полиморфизмов изучаемых генов у больных ХГ с разной СРФ

Скорость развития фиброза	**0 баллов**	**1 балл**	**2 балла**	**3 балла**	**4 балла**	**5 баллов**	**6 балл**	**Кол-во пациентов с ХГ**
Медленная, % (n)	1,8% (1)	32,1% (18)	19,6% (11)	14,3% (8)	1,8% (1)	28,6% (16)	1,8% (1)	56
Высокая, % (n)	5,55% (2)	8,3% (3)	33,3% (12)	16,75% (6)	5,55% (2)	25% (9)	5,5% (2)	36
Количество пациентов	2	22	23	14	3	25	3	92

В группе с медленной СРФ чаще выявлялись пациенты с 1 баллом. В группе с высокой СРФ достоверно чаще обнаруживались лица с баллом 2 и наблюдалась тенденция к увеличению частоты встречаемости больных с баллами 4 и 6. Пациенты с 3 и 5 баллами равновероятно попадали в обе группы.

С целью повышения достоверности прогноза по анализу сочетанного влияния ОНП исследуемых генов использовалась вторая оценочная шкала, которая заключалась в суммировании благоприятных и неблагоприятных аллелей и генотипов у каждого больного. Для упрощения суммирования проведено кодирование с присвоением каждому «профибротическому» аллелю риска «-1» балл, а защитному протективному генотипу генов *CAT* (G262A), *GPX4* (C718T), *IL28B* (C/T) и *VEGFA* (G-634C) «+1» с последующим суммированием (табл. 47).

Таблица 47

Цифровое представление генетического профиля у больных ХГ с разной СРФ

Скорость развития фиброза		**Суммарный балл**							
		-5	-4	-3	-2	-1	0	+1	+2
Медленная n=56	Абс.число(n)	0	3	5	8	9	10	2	19
	%	0	5	9	14,5	16	18	3,5	34
Высокая n=36	Абс.число(n)	2	4	4	7	1	11	2	5
	%	5,5	11	11	19,5	3	30,5	5,5	14

Суммарный балл «–2» и ниже (то есть группы с большим количеством профибротических аллелей) имели 28,5% пациентов с медленно

прогрессирующим ФП (16 больных из 56) и 47% лиц с быстро прогрессирующим течением ХГС (17 человек из 36). При такой генетической комбинации относительный риск прогрессирования поражения печени равнялся 1,7.

Таким образом, определение генетического профиля у больных ХГС может служить дополнительным фактором при оценке риска прогрессирования течения заболевания и поражения печени.

Резюме

При анализе распространенности аллельных пар в полиморфных локусах генов *HAS1* (G/A), *CAT* (G262A), *GPX4* (C718T), *ApoB* (R3500Q), *IL28B* (C/T) и *IL17F* (C11139G) в группах здоровых доноров и больных ХГС достоверных различий выявить не удалось.

Носительство аллеля С гена *VEGFA* (G-634C) в виде гомозиготы СС является фактором риска хронизации гепатита С. Полиморфизмы генов *CAT* (G262A), *GPX4* (C718T), *IL28B* (C/T) и *VEGFA* (G-634C) определяют индивидуальные особенности поражения печени у больных ХГС.

Минорный аллел С гена *VEGFA* (G-634C) ассоциирован с мужским полом и гиперпродукцией ВЭФР. Гетерозигота GA по локусу G262A гена *CAT* и аллель Т по локусу С718Т гена *GPX4* ассоциированы с быстрой скоростью прогрессирования фиброза, высокой вирусной нагрузкой, и частично с гиперпродукцией МДА, снижением выработки ферментов каталазы и ГЛП.

Установлены аллели риска, ассоциированные с прогрессирующим типом течения ХГС – «профибротические» (аллель гена *CAT* +262A, гена *GPX4* +718T, аллель Т гена *IL28B* и аллель -634C гена *VEGFA*) и ассоциированные с медленным прогрессированием заболевания – «протективные» (генотип гена *CAT* +262 GG, гена *GPX4* +718 CC, генотип CC гена *IL28B* и -634 GG гена *VEGFA*).

Определение генетического профиля (*CAT* (G262A), *GPX4* (C718T), *IL28B* (C/T) и *VEGFA* (G-634C) по предложенным шкалам бальной оценки у больных ХГС может служить дополнительным фактором оценки риска прогрессирования заболевания и учитываться при обсуждении показаний к терапии.

ГЛАВА 7. ОЦЕНКА ОБРАТНОГО РАЗВИТИЯ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПРЕПАРАТОВ ИНТЕРФЕРОНА

С целью уточнения возможности использования предложенного комплеса основных лабораторных маркеров для оценки динамики фиброза после терапии препаратами интерферона мы провели сравнительное исследование на модели ХГС.

Пациенты с ХГС первой группы в количестве 20 человек получали комбинированное лечение пегилированным интерфероном-альфа-2b пролонгированного действия (ПегИнтрон) (Schering-Plough Ltd. США) в виде п/к инъекций в дозе 1-1,5 мкг/кг 1 раз в неделю и рибавирином («Фармстандарт», Россия) (ПегИнтрон+Р). Пациенты второй группы в количестве 30 человек получали комбинированное лечение отечественным короткоживущим интерфероном-альфа-2b (Альтевир) (ОАО «Фармстандарт», Россия) внутримышечно через день по 3 млн. Ед. и рибавирином («Фармстандарт», Россия) (Альтевир+Р). Рибавирин пациентам обеих групп назначался перорально в зависимости от массы тела в суточной дозе 800-1200 мг/сут. Длительность терапии определялась генотипом: для генотипа HCV-1 она составляла 48 недель, для HCV-2 и HCV-3 – 24 недели [36, 86].

Исходно и после завершения курса терапии у пациентов обеих групп оценивались следующие параметры: плотность печени, СРФ, маркер фиброза – ГК, показатель регенерации - АФП, маркеры цитолиза - АЛТ и АСТ, параметр холестаза - ГГТП, маркер ПОЛ – МДА, антиоксидантные ферменты каталаза и ГЛП, цитокины, ВЭФР и метаболические показатели.

Пациенты обеих групп до начала терапии были сопоставимы по возрасту ($p=0,07$), длительности заболевания ($p=0,15$), СРФ ($p=0,25$), уровню вирусемии ($p=0,65$) и плотности печени по данным УЗЭ ($p=0,06$), а также не имели достоверных различий по средним концентрациям исследуемых лабораторных параметров: ГК ($p=0,18$), АФП ($p=0,47$), АЛТ ($p=0,24$), АСТ ($p=0,62$), ГГТП ($p=0,23$), МДА ($p=0,98$), ГЛП ($p=0,98$), каталазы ($p=0,53$), ТГ ($p=0,78$), ЛПВП

(p=0,57), ЛПНП (p=0,28), ЛПОНП (p=0,78), ФНО-α (p=0,34), ИЛ-6 (p=0,08) и ВЭФР (p=0,66).

7.1. Динамика параметров развития фиброза при терапии интерфероном пролонгированного действия

Исходная характеристика 20 больных, получавших терапию интерфероном пролонгированного действия по схеме «Пегинтрон+рибавирин», была следующей: возраст пациентов в среднем составлял 37±7,67 лет, 12 (60%) мужчин, 8 (40%) женщин. Предполагаемая длительность инфицирования больных варьировала от 2 до 18 лет (в среднем - 7,0±4,7 лет). Уровень вирусемии составлял в среднем – 3,4 (2,1; 5,9)$\times 10^6$ копий/мл. Высокая ВН наблюдалась более, чем у половины больных (12 человек – 60%). Генотип HCV-1 был выявлен у 10 пациентов (50%), HCV-3 – у 8 больных (40%), реже выявлялся генотип HCV-2 (2 пациента – 10%). Повышение уровня активности трансаминаз АЛТ и АСТ наблюдалось до лечения у половины больных (10 человек – 50%). Средний уровень активности АЛТ составил – 40,5 (31; 93) Ед/л, АСТ – 38,9 (25; 60) Ед/л (рис. 41). При этом, у мужчин до начала терапии регистрировались достоверно более высокие значения АЛТ в сравнении с женщинами (p=0,03), что свидетельствует о большей выраженности цитолиза. У больных с генотипом HCV-1 уровень АЛТ до лечения был значимо выше, чем у лиц с HCV-3: 103 (37; 164) Ед/л и 41 (45; 146) Ед/л соответственно (p=0,02).

Среди больных преобладали пациенты с умеренно выраженным ФП. У половины обследованных (10 пациентов – 50%) до лечения был выявлен умеренный фиброз (F1 - F2) (табл. 48). У больных до начала терапии по данным УЗЭ плотность печени составляла в среднем 6,8 (6,1; 8,6) кПа (рис. 42). При этом, у мужчин до начала терапии регистрировались достоверно более высокие значения плотности печени в сравнении с женщинами: 7,7 (6,1; 8,6) кПа и 6,7 (5,5; 6,9) кПа соответственно (p=0,04). Достоверных различий плотность печени до терапии в зависимости от генотипов не наблюдалось (p=0,44).

При терапии интерфероном пролонгированного действия наблюдался положительный клинический эффект. При опросе пациентов регистрировалось уменьшение жалоб на слабость с 30 до 5%, чувства тяжести в правом подреберье с 20 до 5%. Частота выявления признаков гепатомегалии сократилась с 75 до 10%.

В целом непосредственный вирусологический ответ (НВО) удалось достичь у 17 (85%) пациентов с ХГС. При генотипе HCV-1 НВО наблюдался у 83% больных, при HCV-2 и HCV-3 этот показатель составлял 87,5%. Устойчивый вирусологический ответ (УВО) на лечение был зафиксирован у 15 (75%) пациентов. При генотипе HCV-1 УВО имели 66,7% больных, при HCV-2 и HCV-3 - 87,5% лиц. Полученные данные указывают на закономерно более низкую частоту УВО в сравнении с НВО у лиц с генотипом HCV-1, что свидетельствует о зависимости частоты наступления вирусологического ответа от генотипа вируса.

По результатам контрольного обследования на момент окончания терапии у 85 % пациентов произошло снижение уровня АЛТ в среднем в 2 раза (p=0,01) и АСТ – в 1,3 раза (p=0,03), что указывает на возможность использования биохимического ответа, как одного из клинических критериев эффективности этиотропной терапии (рис. 41).

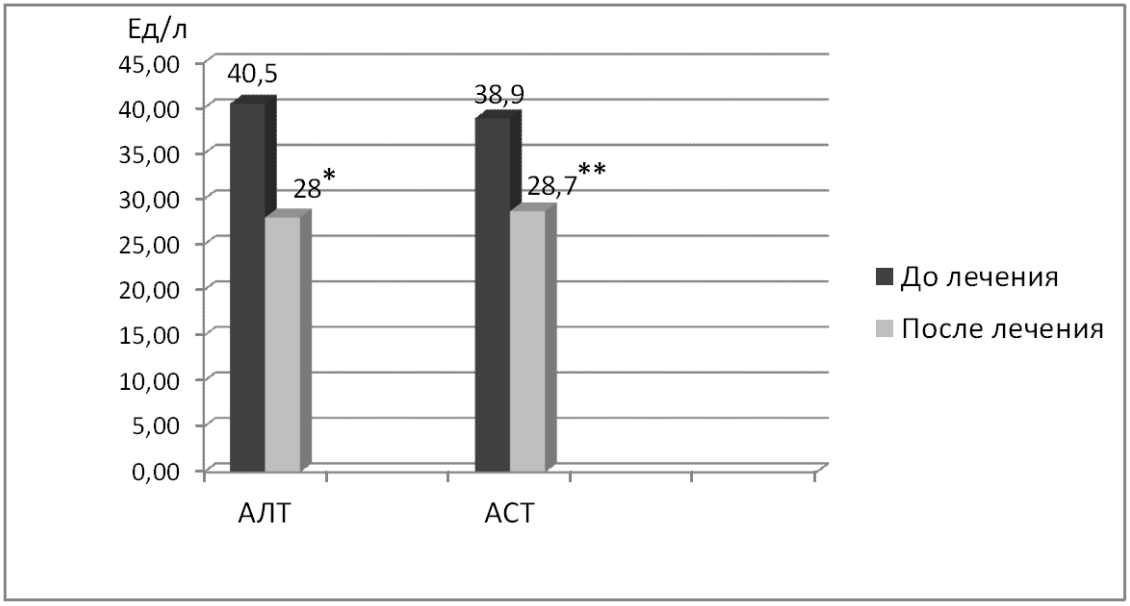

Рис. 41. Динамика трансаминаз при терапии по схеме «ПегИнтрон+рибавирин», p<0,05.

Частота стабильного биохимического ответа у пациентов с HCV-1 и с HCV-2 и HCV-3 составила на лечении пролонгированным интерфероном 83,3 и 87,5% соответственно.

На момент окончания терапии была получена положительная динамика регрессии фиброза по данным УЗЭ с 6,8 (6,1; 8,6) до 5,9 (5,3; 6,7) (p=0,03) (рис. 42). Антифибротический эффект этиотропной терапии интерфероном пролонгированного действия в целом был получен у 69% пациентов.

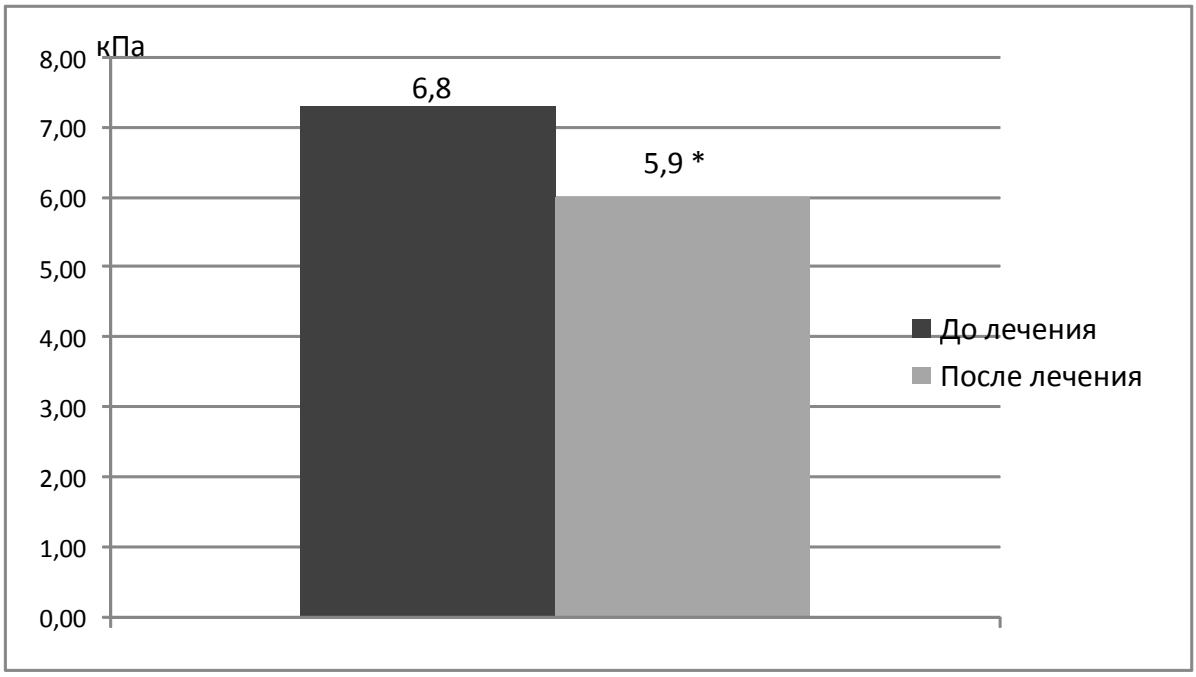

Рис. 42. Динамика плотности печени при терапии по схеме «ПегИнтрон+рибавирин», p<0,05.

Динамика фиброза у больных ХГС после терапии по схеме «ПегИнтрон+рибавирин» представлена в таблице 48.

Таблица 48

Динамика фиброза при терапии по схеме «ПегИнтрон + рибавирин»

Стадии фиброза	**F0**	**F1**	**F2**	**F3**	**F4**
До терапии, n (%)	5 (25)	6 (30)	4 (20)	2 (10)	3 (15)
После терапии, n (%)	8 (40)	7 (35)	3 (15)	1 (5)	1 (5)

Таким образом, после курса этиотропной терапии интерфероном пролонгированного действия количество больных со стадией F0 увеличилось с 25

до 40%, а число пациентов со стадиями F3 и F4 уменьшилось с 25 до 10%, что свидетельствует о регрессии фиброза. Уменьшение СРФ после лечения (p=0,02) также подтверждает антифибротический эффект пролонгированного интерферона (рис. 43).

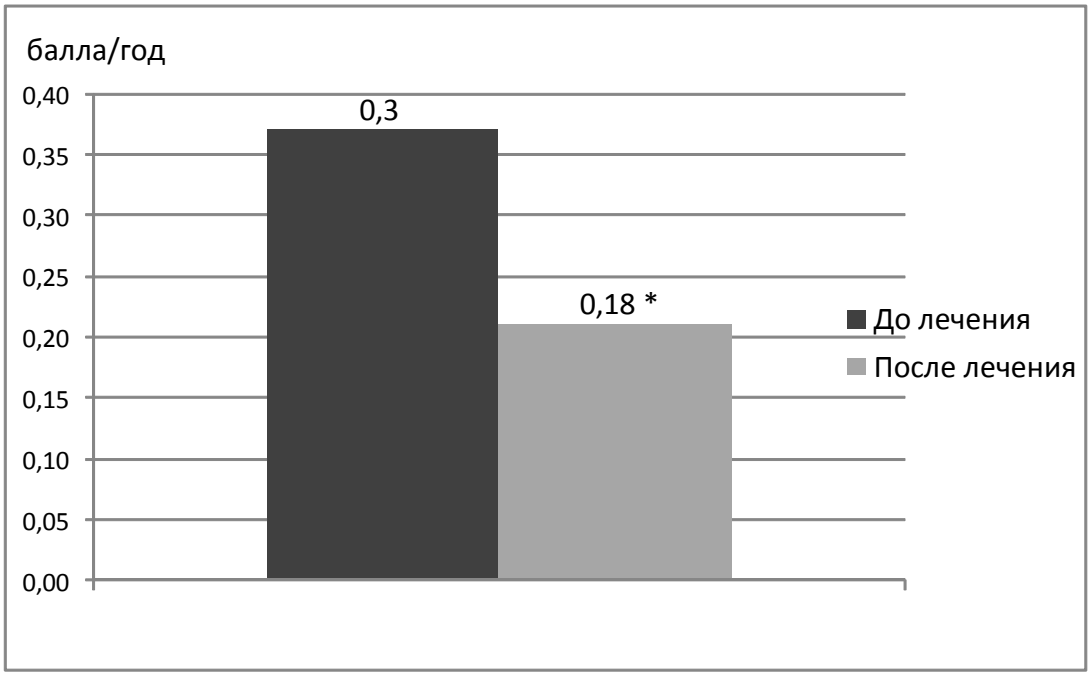

Рис. 43. Динамика скорости развития фиброза при терапии по схеме «ПегИнтрон+рибавирин», p<0,05.

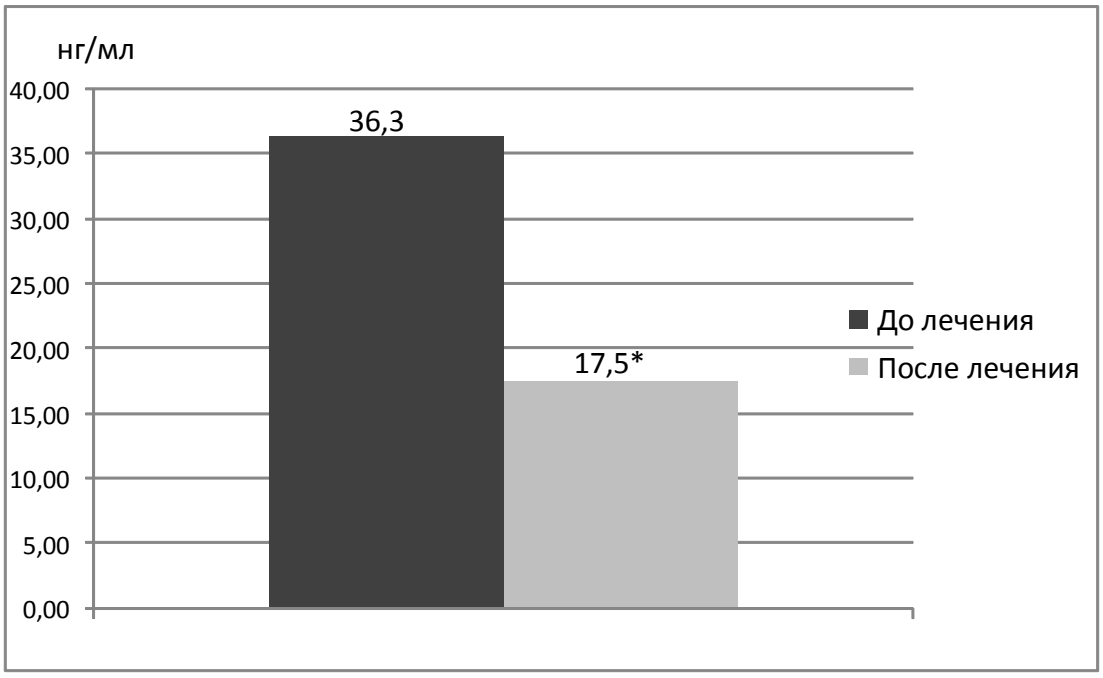

Рис. 44. Динамика гиалуроновой кислоты при терапии по схеме «ПегИнтрон+рибавирин», p<0,05.

При изучении динамики ГК на фоне терапии пролонгированным интерфероном установлено значимое снижение её уровня в среднем в 2 раза: до лечения – 36,3 (22; 133,6) нг/мл, после – 17,5 (13,4; 31) нг/мл (p=0,01) (см. рис. 44), что совпадает со стадиями ФП по данным УЗЭ.

Различий в значениях ГК до начала терапии у мужчин и женщин не наблюдалось (p=0,89). После курса лечения уровень ГК у мужчин снизился в 1,3 раза (p=0,01), у женщин – в 2,6 раз (p=0,01) (рис. 45).

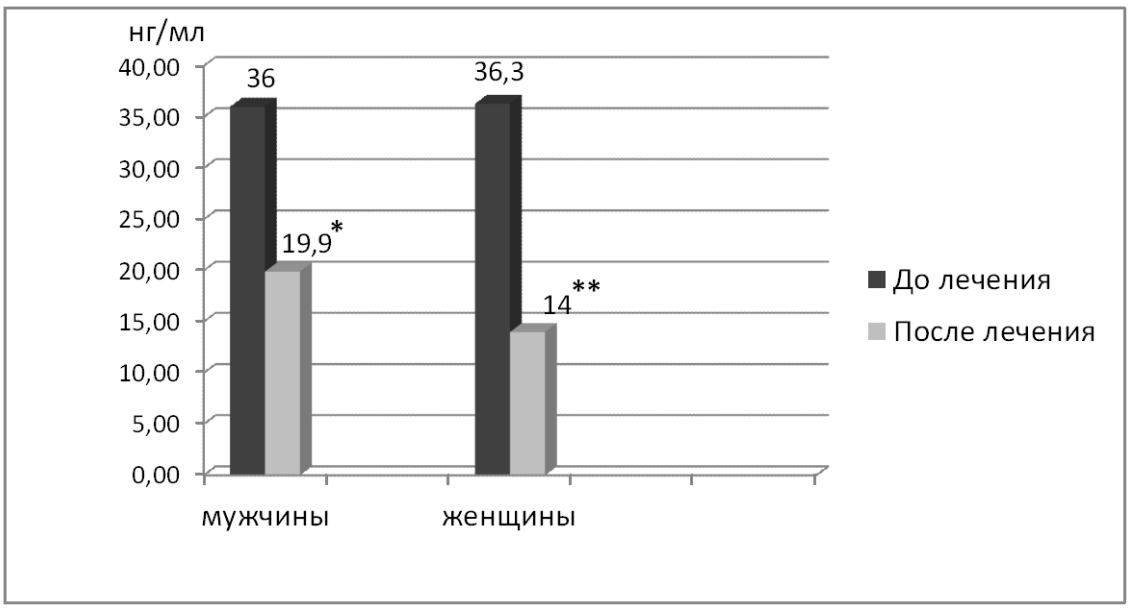

Рис. 45. Динамика гиалуроновой кислоты в зависимости от пола при терапии по схеме «ПегИнтрон+рибавирин», p<0,05.

Исходный уровень ГК у пациентов с генотипом HCV-1 был в 4 раза выше, чем у больных с HCV-2 и 3 (p=0,001). После курса этиотропной терапии концентрация ГК у лиц с генотипом HCV-1 снизилась почти в 4 раза (p = 0,001), у больных с HCV-2 и 3 – в 2,5 раз (p=0,01) (см. рис. 46).

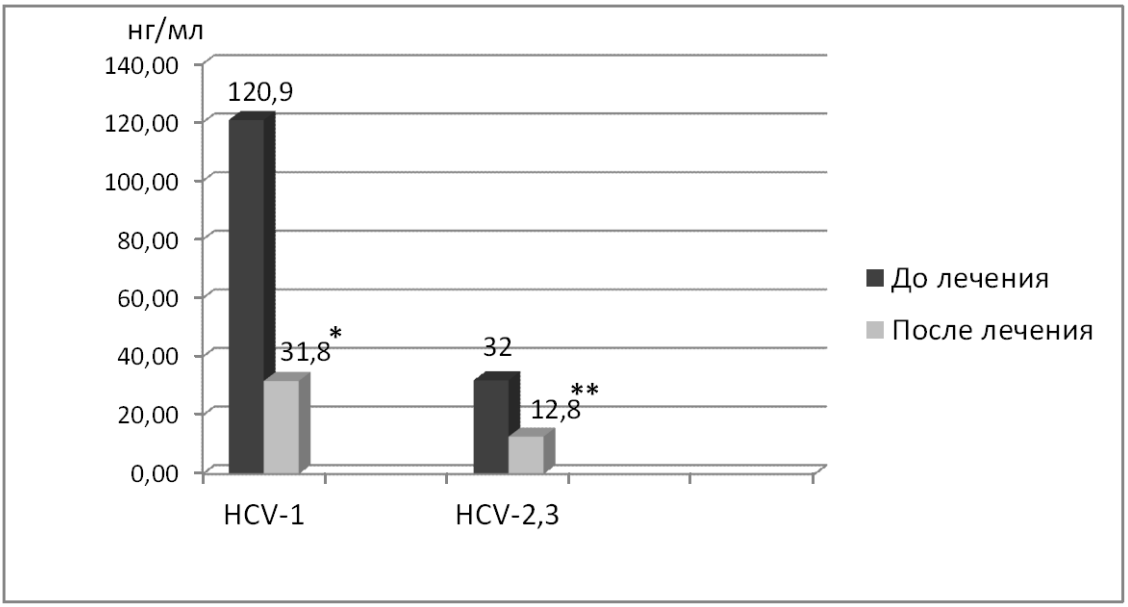

Рис. 46. Динамика гиалуроновой кислоты в зависимости от пола и генотипа HCV при терапии по схеме «ПегИнтрон+рибавирин», p<0,05.

При динамическом анализе маркеров регенерации, холестаза, ПОЛ, антиоксидантных ферментов, цитокинов и метаболических тестов при терапии интерфероном пролонгированного действия у пациентов отмечено достоверное уменьшение концентрации АФП (p=0,01), ГГТП (p=0,03), МДА (p=0,01), ФНО-α (p=0,03), ИЛ-6 (p=0,01), ВЭФР (p=0,01) ТГ (p=0,03) и ЛПОНП (p=0,01). При этом, активность антиоксидантных ферментов каталазы и ГЛП значимо повысилась (p<0,001 и p<0,001) (табл. 49).

Таблица 49

Динамика исследуемых показателей у пациентов при терапии пролонгированным интерфероном, Me (25; 75)

Показатели	**До терапии (n=15)**	**После терапии (n=15)**	**p**
АФП, МЕ/мл	4,89 (3,12; 17,5)	1,9 (1,66; 2,4)	**0,01**
ГГТП, Ед/л	33 (25; 62)	16 (11,5; 33)	**0,03**
МДА, мкмоль/л	7,4 (5,2; 10,6)	3,1 (2,2; 3,6)	**0,01**
Каталаза,мкат/л	11,5 (5,5; 14,7)	17 (12,7; 21)	**<0,001**
ГЛП, мкмоль/л	8,2 (5,5; 12)	14 (11,4; 17,9)	**<0,001**
ФНО-α, пг/мл	1,9 (1,1; 3,0)	1,5 (1,3; 2,2)	**0,03**

ИЛ-6, пг/мл	1,2 (0,3; 7,95)	0,8 (0; 1,5)	**0,01**
ВЭФР, пг/мл	325,2 (283; 526)	185,5 (138; 379)	**0,01**
ТГ, ммоль/л	1,18 (1; 1,47)	0,9 (0,64; 1,34)	**0,03**
ЛПОНП, ммоль/л	0,54 (0,45; 0,66)	0,42 (0,29; 0,6)	**0,01**

Примечание: p – достоверность различий.

Полученные данные свидетельствует об уменьшении на фоне терапии интерфероном пролонгированного действия по схеме «ПегИнтрон+рибавирин» выраженности синдрома холестаза, воспаления, пероксидации липидов, процессов сосудистой перестройки и регенерации при нормализации антиоксидантной защиты и метаболических параметров.

Клинический пример 4. Больной И. 47 лет. В течение 7 лет наблюдался у врача-инфекциониста в Пермском краевом гепатологическом центре по поводу хронического гепатита С, HCV-1, вирусная нагрузка $1{,}2\times10^6$ копий/мл. Направлен в инфекционное отделение для проведения комбинированной противовирусной терапии. На момент осмотра пациент предъявлял жалобы на диспепсию, выраженную слабость, кровоточивость десен. При обследовании был диагностирован цирроз печени в исходе хронического гепатита С. При объективном осмотре отмечалась субиктеричность склер, печень +2 см ниже края реберной дуги, спленомегалия, живот вздут, некоторая болезненность. Данные плотности печени по результатам УЗЭ: 47,5 кПа (стадия F4). По данным биохимического исследования значения АЛТ и АСТ в сыворотке крови составляли при поступлении – 109 Ед/л и 74 Ед/л соответственно. Пациент в течении 48 недель получал комбинированное лечение пегилированным интерфероном-альфа-2b (ПегИнтрон) (Schering-Plough Ltd. США) в виде п/к инъекций в дозе 1,5 мкг/кг 1 раз в неделю и рибавирином («Фармстандарт», Россия) в суточной дозе 1200 мг/сут.

На момент окончания терапии у пациента был отмечен положительный НВО - отсутствие РНК HCV в крови по результатам ПЦР. Наблюдался положительный биохимический ответ: уровни ферментов АЛТ и АСТ по завершении лечения в сыворотке крови составили 59,2 и 40 Ед/л соответственно.

Антифибротический ответ также был положительный: плотность печени по результатам УЗЭ после лечения равнялась 13,6 кПа. У больного уменьшилась СРФ с 0,57 до 0,28 балла/год. Динамика исследуемых тестов в процессе лечения была положительной: уровень ГК снизился с 82,6 до 44,8 нг/мл, АФП с 27,4 до 1,78 МЕ/мл, ГГТП со 131 до 56 Ед/л, ТГ с 1,72 до 0,64 ммоль/л, ЛПОНП с 0,78 до 0,29 ммоль/л, ФНО-α с 13 до 2,5 пг/мл, ИЛ-6 с 41,7 до 2,8 пг/мл, ВЭФР с 562,7 до 159,2 пг/мл, МДА с 11,5 до 2,8 мкмоль/л, повысилась активность каталазы с 3,24 до 14,7 мкал/л и ГЛП с 7,3 до 12,4 мкмоль/л соответственно. У пациента был отмечен положительный УВО - отсутствие РНК HCV в крови по результатам ПЦР через 6 месяцев после завершения курса лечения.

Таким образом, терапия интерфероном пролонгированного действия сопровождается достоверным снижением активности воспаления, холестаза, процессов сосудистой перестройки, регенерации при нормализации механизмов антиоксидантной защиты и метаболических показателей, что сопровождается уменьшением выраженности фиброза и скорости его развития в 69%.

7.2. Анализ результатов лечения интерфероном короткого действия

Исходная характеристика 30 больных ХГС, получавших терапию отечественным короткоживущим интерфероном по схеме «Альтевир+рибавирин», была следующей: возраст пациентов в среднем составил 33,5±6,36 лет, распределение по полу выявило большее количество женщин (21 человек — 70%), чем мужчин (9 человек – 30%). Предполагаемая длительность инфицирования у пациентов варьировала от 2 до 10 лет (в среднем - 6,4±3,05 года). Уровень вирусемии составил в среднем 5,1 (1,8; 9,0)$\times 10^6$ копий/мл). Высокая ВН наблюдалась более, чем у половины больных (18 человек – 60%). У всех пациентов был выявлен генотип HCV-3. Повышение уровня активности АЛТ наблюдалось до лечения у большинства лиц (22 человека – 73%), АСТ была повышена у 10 человек (33,3%). Средний уровень активности АЛТ составил – 62,5 (41; 95) Ед/л, АСТ – 33,5 (28; 51) Ед/л (рис. 47). Среди больных преобладали пациенты с умеренно выраженным фиброзом. Более половины обследованных

(16 пациентов – 53,3%) до лечения имели фиброз печени в стадиях F1-F2 (табл. 50). У больных до начала терапии по данным УЗЭ плотность печени составляла в среднем 6,3 (5,0; 7,1) кПа (рис. 48). При этом, достоверных различий плотности печени у мужчин и женщин не наблюдалось: 6,2 (5,4; 6,9) кПа и 6,5 (4,8; 7,5) кПа соответственно (p=0,55).

При терапии интерфероном короткого действия наблюдался положительный клинический эффект у большинства пациентов. Частота выявления признаков гепатомегалии сократилась с 80 до 7%.

Вирусологический ответ на момент окончания терапии удалось достичь у 28 (93%) пациентов. При этом, УВО на лечение был зафиксирован у 86,6% больных. По результатам обследования на момент окончания терапии произошло снижение уровня АЛТ у 90% в 3,2 раза с 62,5 (41; 95) Ед/л до 18,75 (13,6; 29) Ед/л (p<0,001) и АСТ – в 1,6 раз у 90% пациентов с 33,5 (28; 51) Ед/л до 21 (18,6; 30,8) Ед/л (p=0,001) (рис. 47). Непосредственный биохимический ответ составил 90%.

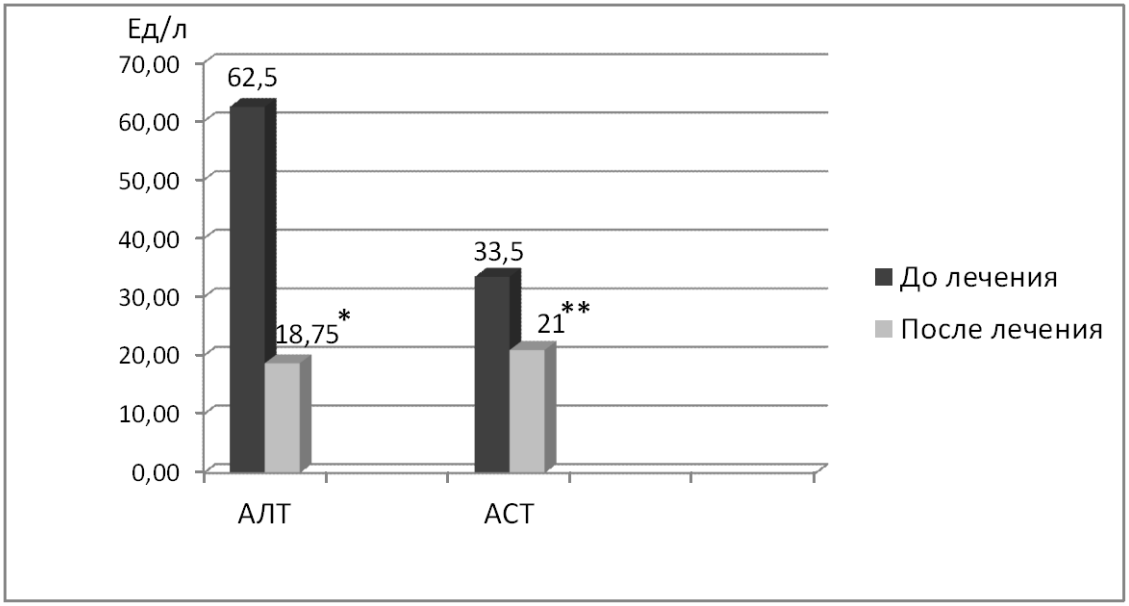

Рис. 47. Динамика трансаминаз при терапии по схеме «Альтевир+рибавирин», p<0,05.

Частота стабильного положительного биохимического ответа у мужчин и женщин составила 80 и 100% соответственно.

На момент окончания терапии короткоживущим интерфероном была получена положительная динамика регрессии ФП по данным УЗЭ с 6,3 (5,0; 7,1)

до 5,7 (4,4; 6,6) (p=0,02) (рис. 48). Антифибротический эффект в целом был достигнут у 70% пациентов, что сопоставимо с результатами, полученными при лечении интерфероном пролонгированного действия.

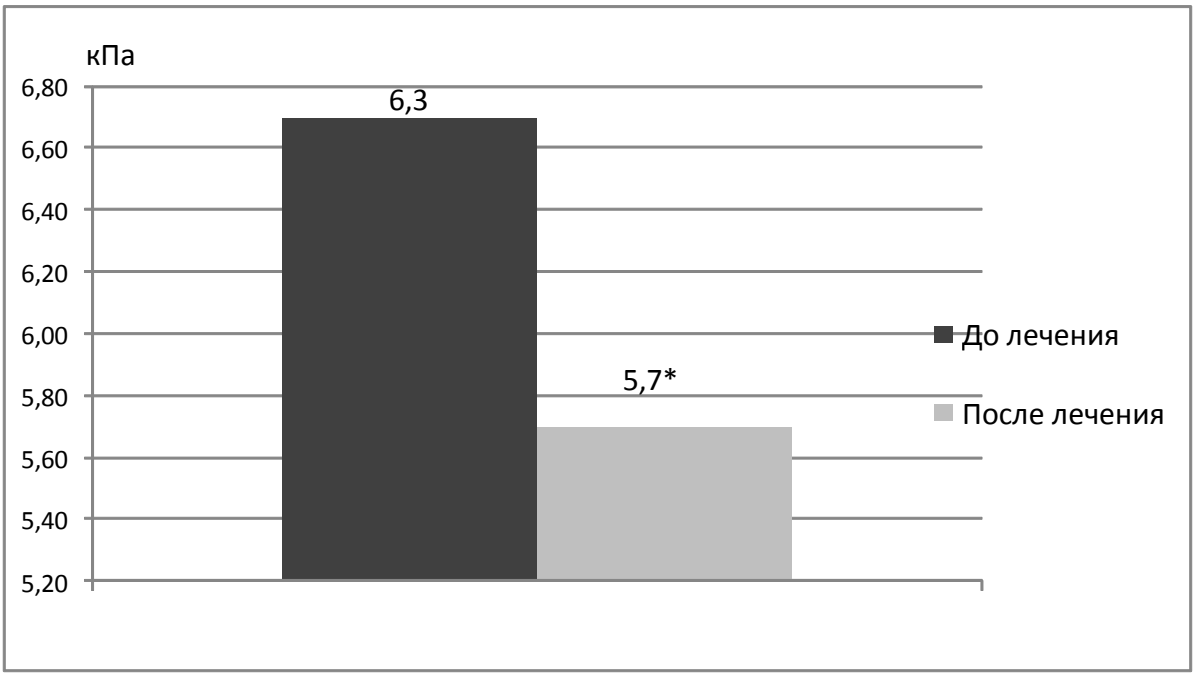

Рис. 48. Динамика плотности печени при терапии по схеме «Альтевир+рибавирин», p<0,05.

Динамика фиброза у больных при лечении по схеме «Альтевир+рибавирин» представлена в таблице 50.

Таблица 50

Динамика фиброза при терапии по схеме «Альтевир+рибавирин»

Стадии фиброза	**F0**	**F1**	**F2**	**F3**
До терапии, n (%)	13 (43,3)	11 (36,7)	5 (16,7)	1 (3,3)
После терапии, n (%)	22 (73,3)	3 (10)	5 (16,7)	0 (0)

После терапии количество больных со стадией F0 увеличилось с 43 до 73%, а число пациентов со стадиями F1-2 уменьшилось с 53,4 до 26,7%. У больных также отмечалось значимое уменьшение СРФ с 0,21±0,2 до 0,1±0,1 балла/год (p=0,02), что подтверждает антифибротический эффект терапии которкоживущим интерфероном (рис. 49).

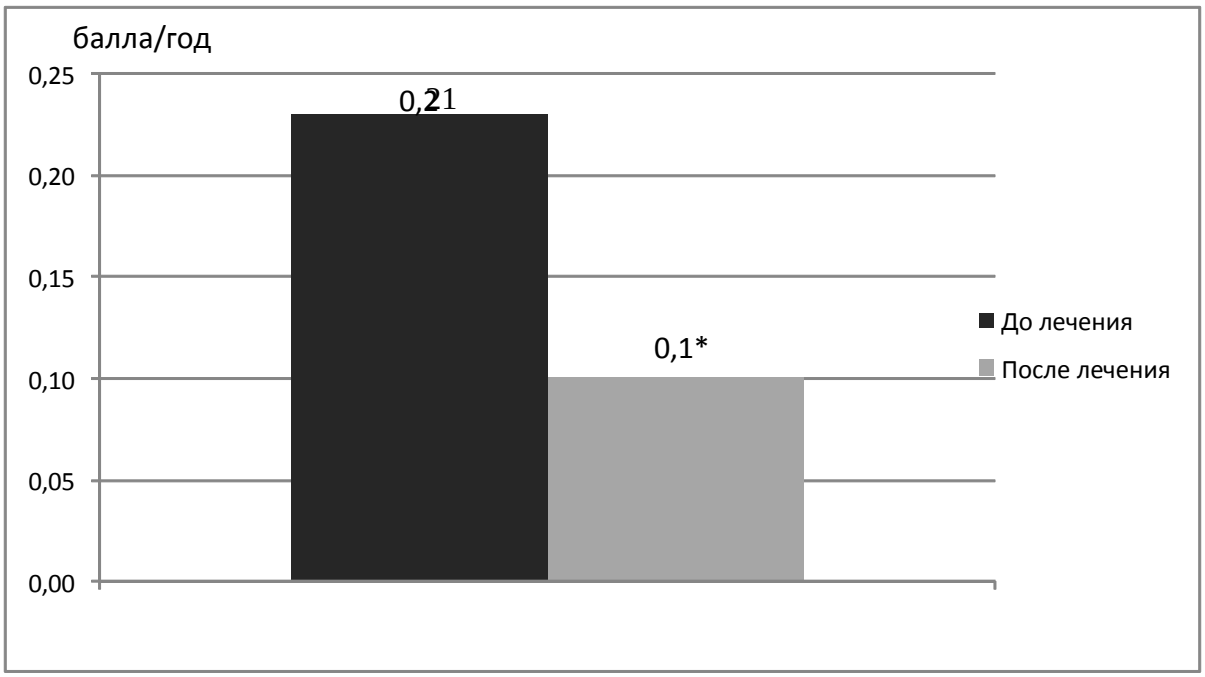

Рис. 49. Динамика скорости развития фиброза при терапии по схеме «Альтевир+рибавирин», p<0,05.

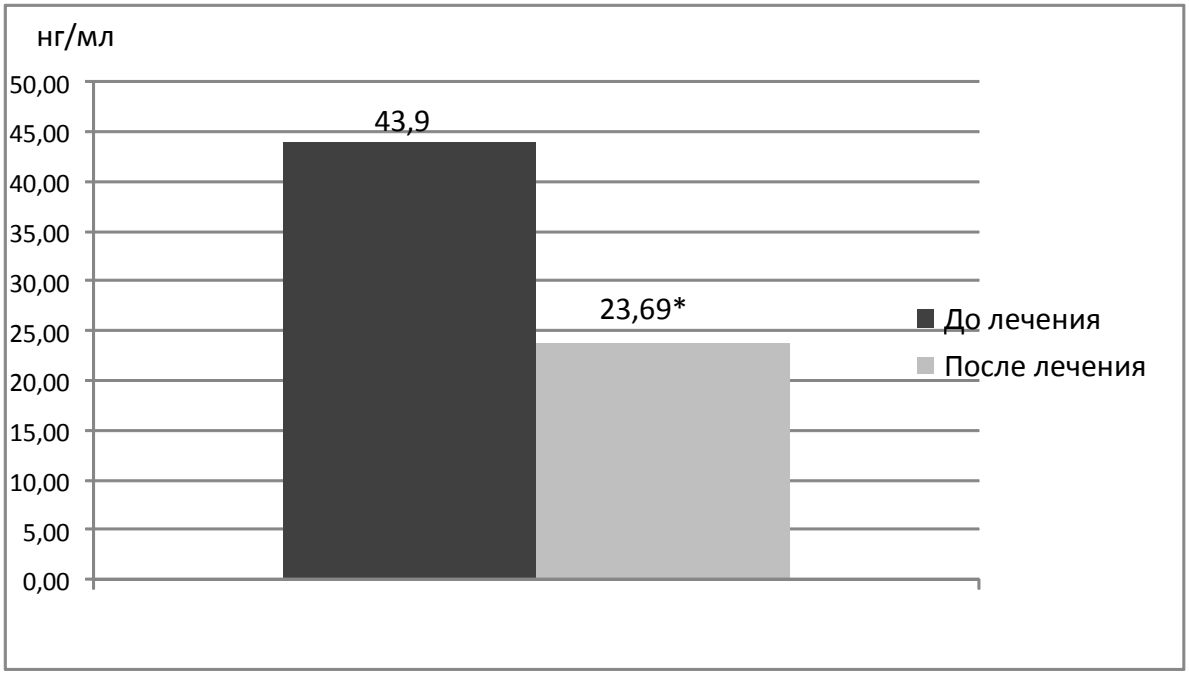

Рис. 50. Динамика гиалуроновой кислоты при терапии по схеме «Альтевир+рибавирин», p<0,05.

При изучении динамики ГК в процессе терапии по схеме «Альтевир+рибавирин» установлено значимое снижение ее уровня в среднем в 1,9 раз с 43,9 (26,9; 90,4) нг/мл до 23,69 (13,8; 25) нг/мл (p=0,001) (см. рис. 50).

До начала этиотропной терапии интерфероном короткого действия у мужчин регистрировались достоверно более высокие сывороточные уровни ГК, чем у женщин: 82,9 (50; 96,4) нг/мл и 36,5 (26,9; 53) нг/мл соответственно (p=0,001). После курса лечения уровень ГК у мужчин снизился в 6,3 раз (p<0,001), у женщин – в 2 раза (p=0,01) (рис. 51).

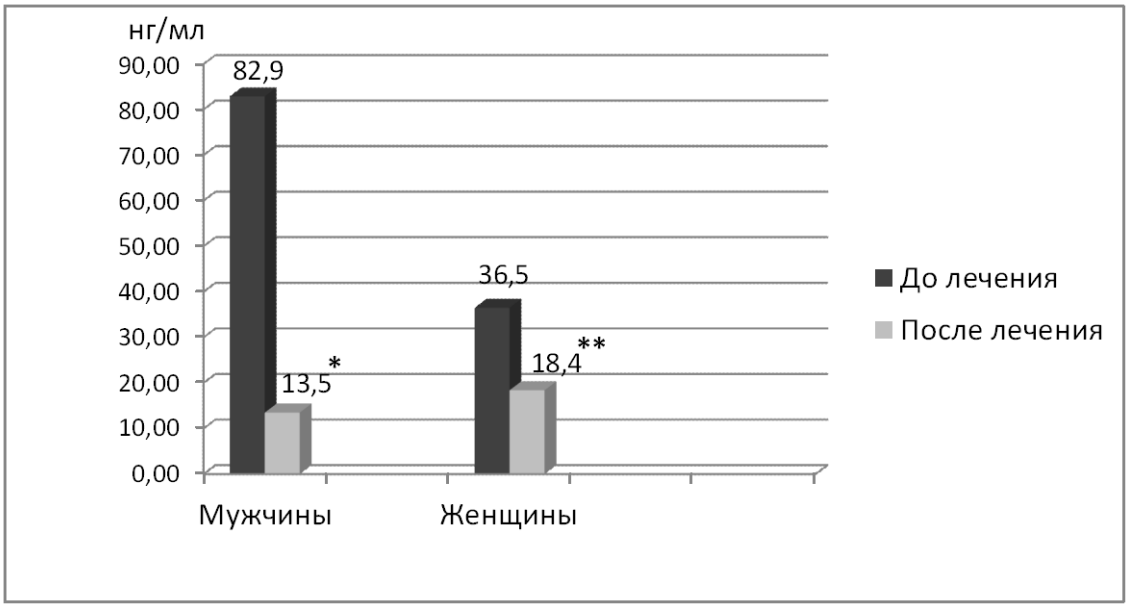

Рис. 51. Динамика гиалуроновой кислоты в зависимости от пола при терапии по схеме «Альтевир+рибавирин», p<0,05.

При динамическом анализе маркеров холестаза, регенераторной активности печени, ПОЛ, антиоксидантных ферментов, провоспалительных цитокинов и метаболических показателей на момент окончания терапии интерфероном короткого действия у пациентов в целом отмечено значимое уменьшение концентрации ГГТП (p=0,002), МДА (p=0,03), ФНО-α (p=0,03), ИЛ-6 (p=0,01), ВЭФР (p=0,01), ТГ (p=0,01) и ЛПОНП (p=0,01) при повышении активности антиоксидантных ферментов каталазы (p<0,001) и ГЛП (p<0,001) (табл. 51).

Таблица 51

Динамика исследуемых показателей при терапии интерфероном короткого действия, Me (25; 75)

Показатели	**До терапии (n=20)**	**После терапии (n=20)**	**p**
АФП, МЕ/мл	2,04 (1,18; 2,67)	1,9 (1,4; 2,3)	0,81
ГГТП, Е/л	21 (15; 34)	12,05 (11; 17)	**0,002**
МДА, мкмоль/л	6,5 (2,8; 12,9)	2,3 (1,8; 2,8)	**0,03**
Каталаза,мкат/л	10,6 (6,7; 14,6)	19,2 (16,7; 24,7)	**<0,001**
ГЛП, мкмоль/л	11 (7,6; 13,5)	18,8 (12,9; 24)	**<0,001**
ФНО-α, пг/мл	1,8 (1,0; 2,9)	1,4 (0; 1,1)	**0,03**
ИЛ-6, пг/мл	0,7 (0,2; 3,1)	0 (0; 0,6)	**0,01**
ВЭФР, пг/мл	320,5 (198; 559)	266,8 (97; 322)	**0,01**
ТГ, ммоль/л	1,18 (0,9; 1,44)	0,9 (0,7; 1,26)	**0,01**
ЛПОНП, ммоль/л	0,5 (0,4; 0,65)	0,4 (0,3; 0,57)	**0,01**

Примечание: p – достоверность различий.

Таким образом, терапия отечественным интерфероном короткого действия по схеме «Альтевир+рибавирин» сопровождается достоверным снижением активности холестаза, воспаления, пероксидации липидов, процессов сосудистой перестройки при нормализации механизмов антиоксидантной защиты и метаболических показателей, что сопровождается уменьшением выраженности фиброза в 70% и скорости его развития, и сопоставимо с результатами, полученными при лечении интерфероном пролонгированного действия по схеме «ПегИнтрон+рибавирин».

Клинический пример 5. Больной Б. 36 лет. В течение 2 лет наблюдался у врача-инфекциониста в Пермском краевом гепатологическом центре по поводу хронического гепатита С, HCV-3, вирусная нагрузка высокая $7{,}3\times10^6$ копий/мл. Направлен в инфекционное отделение для проведения комбинированной противовирусной терапии. Активных жалоб на момент осмотра пациент не предъявлял. Кожа и склеры физиологической окраски, печень +0,5 см ниже края реберной дуги. Живот мягкий, безболезненный. Данные плотности печени по

результатам УЗЭ: 7,4 кПа (стадия F1). По данным биохимического исследования значения АЛТ и АСТ в сыворотке крови составляли при поступлении - 95 и 42 Ед/л соответственно. Пациент в течении 24 недель получал комбинированное лечение интерфероном-альфа-2b (Альтевир) (ОАО «Фармстандарт», Россия) внутримышечно через день по 3 млн. Ед. и рибавирином («Фармстандарт», Россия) в суточной дозе 800 мг/сут.

На момент окончания терапии у пациента был отмечен положительный НВО - отсутствие РНК HCV в крови по результатам ПЦР. Наблюдался положительный биохимический ответ: уровни ферментов АЛТ и АСТ по завершении терапии в сыворотке крови составили 12 и 21,7 Ед/л соответственно. Антифибротический ответ также был положительный: плотность печени по результатам УЗЭ после курса терапии равнялась 5,4 кПа (F0). У больного уменьшилась СРФ с 1,0 до 0 баллов/год. Динамика по всем исследуемым тестам в процессе лечения была положительной: уровень ГК снизился с 50,1 до 7,9 нг/мл, АФП с 1,91 до 1,72 МЕ/мл, ГГТП с 74 до 17,4 Ед/л, ФНО-α с 2,1 до 1,0 пг/мл, ИЛ-6 с 0,9 до 0 пг/мл, ВЭФР со 198,8 до 103 пг/мл, МДА с 10,7 до 1,9 мкмоль/л, ТГ с 1,64 до 1,26 ммоль/л, ЛПОНП с 0,65 до 0,56 ммоль/л, повысилась активность каталазы с 10,2 до 19 мкал/л и ГЛП с 7,6 до 14,6 мкмоль/л. У пациента был отмечен положительный УВО - отсутствие РНК HCV в крови по результатам ПЦР через 6 месяцев после завершения курса терапии.

Комплексный анализ антифибротической, биохимической и вирусологической эффективности терапии интерферонами пролонгированного и короткого действия представлен в таблице 52.

Таблица 52

Анализ эффективности терапии интерферонами

Показатели эффективности		**Схемы терапии интерферонами**	
		«ПегИнтрон+рибавирин» (n=20)	«Альтевир+рибавирин» (n=30)
Антифибротический эффект, %		69	70
Плотность печени, кПа	до лечения	6,8 (6,1; 8,6)	6,3 (5,0; 7,1)
	после лечения	5,9 (5,3; 6,7)	5,7 (4,4; 6,6)

Me (25; 75)	p	**0,03**	**0,02**
СРФ, балла/год M±σ	до лечения	0,31±0,26	0,21±0,2
	после лечения	0,18±0,16	0,1±0,1
	p	**0,02**	**0,02**
ГК, нг/мл Me (25; 75)	до дечения	36,3 (22; 133,6)	43,9 (26,9; 90,4)
	после лечения	17,5 (13,4; 31)	23,69 (13,8; 25)
	p	**0,01**	**0,001**
Непосредственный биохимический ответ, %		85	90
Вирусологический ответ, %	НВО	85	93
	УВО	75	86,6

Мониторинг показателей: СРФ, ГК, ГГТП, ФНО-α, ИЛ-6, ВЭФР, МДА, каталазы и ГЛП можно применять в качестве динамических критериев оценки антифибротического эффекта этиотропной терапии ХГС интерферонами короткого и пролонгированного действия.

Резюме

Положительная динамика маркера фиброза ГК и уменьшение СРФ при терапии препаратами интерферона свидетельствует об обратном развитии процесса, совпадало с данными УЗЭ и не различалось от вида препарата.

Наряду с уменьшением фиброза, улучшились показатели холестаза, воспаления, липидного спектра, процессов сосудистой перестройки и пероксидации липидов при нормализации антиоксидантной защиты.

ОБСУЖДЕНИЕ

Основной путь прогрессирования ХЗП, приводящего к ее повреждению – это процесс активации фиброгенеза [23, 39, 57, 73, 340]. В последнее время расширились представления о патогенетических основах воспаления и механизмах фиброгенеза [57, 221, 222, 248, 327]. Достигнутый прогресс привел к пониманию возможности обратимости ФП [194, 199] и к достаточно реалистичным ожиданиям того, что эффективная терапия улучшит прогноз даже при ЦП [200].

В связи с чем, оценка прогрессирования ФП и наиболее значимых по влиянию на него факторов в динамике остается актуальной задачей современной медицины, обосновывая необходимость комплексного изучения механизмов его развития при заболеваниях печени различной этиологии и способов диагностики.

Гепатотропные вирусы и алкоголь оказывают прямое гепатотоксическое действие, вызывают иммуноопосредованное повреждение печени и провоцируют оксидативный стресс, усиливая тем самым процессы ПОЛ, которые по мнению некоторых авторов могут стимулировать фиброгенез в печени [24, 176, 301]. В отношении активности ферментов АОС в литературе встречаются достаточно противоречивые сведения. Очевидно, это объясняется многокомпонентностью её структуры и многообразием применяемых методических подходов к оценке этой системы. В литературе встречаются данные о повышении активности ферментов глутатиона в эритроцитах при токсических и вирусных гепатитах [43]. Другие авторы находили повышение активности ферментов системы глутатиона в биоптатах печени при гепатите и циррозе [250]. Следовательно, мониторинг активности ПОЛ, наряду с комплексным изучением системы антиоксидантной защиты у больных с заболеваниями печени, представляется актуальной задачей.

Определенный интерес с точки зрения комплекного подхода к изучению механизмов ФП представляет определение сывороточных маркеров обмена железа. По мнению Ч.С. Павлова (2009) измененные сывороточные показатели обмена железа следует рассматривать, как дополнительные критерии ФП у больных ХГС [70, 71]. Однако, генез выраженных нарушений метаболизма железа

и влияние на результаты этиотропной терапии при патологии печени все еще не до конца ясен, а данные различных исследований весьма противоречивы.

В различных исследованиях показана роль целого ряда цитокинов в патогенезе заболеваний печени [174, 197, 269], а также в развитии осложнений [288, 330]. По мнению некоторых авторов определение цитокинового статуса играет важную роль для оценки динамики фиброза и прогноза заболевания, так как уровень цитокинов отражает интенсивность воспаления и регенераторных процессов в печени [97, 200, 221, 249, 269, 274]. В литературе встречаются данные о том, что продукция цитокинов нарушается на ранних стадиях развития патологических процессов в печени, предшествуя функциональным нарушениям, а терапия ХГ сопровождается снижением увеличенных значений сывороточных цитокинов [79, 174]. Однако, нет однозначного представления о зависимости синтеза провоспалительных цитокинов от активности заболевания, а также их влияния на темпы прогрессии ФП.

Актуальным аспектом в вопросе механизмов прогрессирования ФП является проблема сочетания вирусных и метаболических повреждений печени. Сопутствующие метаболические нарушения рассматриваются в качестве основных причин «метаболического» стеатоза печени при поражении печени вирусного генеза [161]. Однако, что у значительной части больных ХГС при отсутствии ожирения и сахарного диабета выявляется жировое поражение гепатоцитов, что позволяет предполагать роль вируса в развитии «вирусного» стеатоза печени при ХГ [289]. Таким образом, необходимо уточнить значение метаболических изменений, влияющих на течение и прогрессирование ФП.

Разработка способов диагностики стадии ФП также оказалась в числе актуальных задач современной медицины. Оценка выраженности ФП является важным этапом обследования, позволяющим определить стадию и прогноз заболевания, а также выбрать рациональную индивидуальную терапевтическую стратегию. Несмотря на то, что пункционная биопсия печени сохраняет значение «золотого стандарта» в оценке стадии фиброза, ее инвазивность и сложность значительно ограничивают возможности использования [63, 326, 336, 341]. Этот

метод не применим для массовых обследований пациентов с впервые выявленными маркерами вирусных гепатитов. Последующий мониторинг пациентов на фоне естественного течения заболевания и после проведенной терапии также требует доступных неинвазивных тестов.

Существует ряд инструментальных методик, таких как УЗЭ и магнитно-резонансная эластография, позволяющих измерить эластичность печеночной ткани и оценить выраженность ФП. Данные методы имеют достаточно высокую точность в определении стадий фиброза. Главными недостатками этих методик является необходимость использования специализированного и дорогостоящего медицинского оборудования, специально обученного и высококвалифицированного персонала, а также ряд противопоказаний и ограничений для проведения процедуры: например – беременность, ожирение [177, 217, 267, 355].

Существует множество лабораторных тестов и их комбинаций, основанных на измерении концентрации тех или иных веществ в сыворотке крови. Среди них предложены как прямые маркеры, непосредственно участвующие в процессе фиброгенеза, так и косвенные показатели, отражающие снижение функциональной активности органа [109, 114, 118, 119, 121, 313]. С помощью их применения удается избежать биопсии у 50–70% больных на стадиях умеренного и выраженного ФП [311, 313]. Комбинация эластографии с применением сывороточных маркёров фиброза повышает информативность и точность оценки стадии фиброза [36]. Следует однако отметить достаточно высокую стоимость многих из существующих на сегодняшний день зарубежных гепатопанелей. Например, стоимость панели FibroMax составляет около 200-250 евро. Таким образом, проведение дополнительных исследований в этой области позволит разработать новые и возможно более эффективные и общедоступные тесты диагностики ФП.

Особый интерес представляет изучение ОНП генов, продукты которых участвуют в механизмах развития и прогрессирования ФП. Несмотря на значительное число исследований, посвященных поиску взаимосвязи между ОНП

генов-кандидатов и темпами развития ФП, а также ответом на этиотропную терапию, достоверные данные получены для небольшого числа генов. В ряде исследований приводятся противоречивые результаты, что, вероятно, связано с разными критериями включения больных в сравниваемые группы, разными схемами лечения и этнической неоднородностью групп [1, 44, 71, 100, 129, 130, 140, 316].

Вопросы антифибротической терапии, которая должна включать воздействие на все патогенетические звенья фиброгенеза, как самостоятельного подхода давно обсуждаются в клинической практике [57, 58, 67, 90, 260, 282]. Однако, направления в лечении ФП являются в основном перспективными и до настоящего времени каких-либо четких стандартов лечения фиброза не разработано [57, 58, 67, 69, 144].

На сегодняшний день в качестве основного направления лечения заболеваний печени используется принцип устранения этиологического фактора фиброза [39, 57, 58, 67, 69]. Последнее десятилетие в мировой практике стандарт лечения ХГС представлен двойной схемой этиотропной терапии: комбинацией интерферона-альфа пролонгированного действия Пег-ИФН-α и рибавирина [37, 52]. В определенных случаях применяются короткоживущие интерфероны-альфа (альтевир, лайфферон) [13, 35, 42]. Во многих исследованиях приводятся данные по антифибротическому действию интерферонов преимущественно пролонгированного действия. Показано, что эластографические показатели улучшаются в ходе этиотропной терапии, особенно при быстром вирусологическом ответе [2, 75, 141, 165, 192, 229, 237, 283, 284]. Актуальным представляется комплексная оценка влияния этиотропой терапии препаратами интерферона отечественного производства, используемыми в клинической Российской практике на основные патогенетические звенья и темпы прогрессирования ФП.

Все вышеперечисленные обстоятельства обусловили необходимость и актуальность данного исследования, **цель** которого состояла в том, чтобы ссформировать комплекс инструментальных, лабораторных и генетических

показателей основных механизмов фиброгенеза печеночной ткани, установить их диагностическую ценность и прогностическую значимость при ХЗП.

Основную группу наблюдения составили пациенты с ХЗП вирусной и алкогольной этиологии, находившиеся на стационарном лечении в Пермской краевой клинической инфекционной больнице (инфекционное отделение № 2), в клинической медико-санитарной части № 1 г. Перми (гастроэнтерологическое отделение) и в ФГБУ «3 Центральный военный клинический госпиталь им. А.А. Вишневского» Минобороны РФ в г. Красногорске Московской обл. (центр гастроэнтерологии и гепатологии). В исследовании приняли участие 170 человек. Все пациенты были разделены на две группы в зависимости от этиологии заболевания: хронический вирусный гепатит С, алкогольная болезнь печени (вариант цирроза печени в исходе хронического гепатита).

Первую группу составили 150 пациентов с ХГС, среди которых было 74 (49%) мужчин и 76 (51%) женщин в возрасте от 20 до 61 года (средний возраст - 38,89±11,31 лет) с предполагаемой длительностью заболевания от 2 до 18 лет (в среднем - 5,96+3,49 лет). Диагноз вирусного гепатита С был установлен на основании выявления серологических маркеров к HCV методом ИФА и подтвержден обнаружением РНК возбудителя в сыворотке больного методом ПЦР. При опросе у 47% больных ХГ были выявлены признаки астенического синдрома, в 19% жалобы диспепсического характера, 12% больных отмечали периодические боли в животе. При объективном осмотре выявлялись следующие симптомы: увеличение ординат Курлова (80%), желтушность кожных покровов и склер (10%), спленомегалия (7%), признаки геморрагического синдрома (7%). Встречаемость генотипов HCV в исследуемой группе пациентов с ХГ составила: HCV-1 - 46%, HCV-2 – 11% и HCV-3 - 43%. При этом, достоверной разницы в частоте встречаемости генотипов у мужчин и женщин не выявлено (p=0,78).

В вторую группу с АЦП в фазе субкомпенсации (В класс по Чайлд-Пью) [12] было включено 20 человек: 14 мужчин (70%) и 6 женщин (30%) средним возрастом 49,5±10,8 лет (от 34 до 66 лет). Алкогольный генез ЦП подтверждался на основании данных анамнеза (признание пациентом регулярного употребления

алкогольных напитков), результатов тестирования по опроснику GAGE, косвенным объективным и лабораторным признакам ХАИ [62, 348]. При анализе клинического статуса у всех больных АЦП выявлены признаки астенического и диспесического синдрома. В 60% случаев отмечалась тяжесть в правом подреберье, артралгии, субфебрилитет, носовые геморрагии, отеки на ногах. Больше половины пациентов с АЦП отмечали снижение веса, зуд кожных покровов. При объективном осмотре у 80% больных данной группы было зарегистрировано увеличение и уплотнение печени разной степени выраженности, признаки желтухи, портальной гипертензии, в 60% случаев выявлено увеличение селезенки. При проведении УЗИ у больных выявлены также признаки портальной гипертензии в виде расширения сосудов портальной системы, спленомегалии, признаки асцита, диффузно-неравномерное повышение эхогенности печени.

Контрольную группу составили 100 практически здоровых лиц, у которых при полном клиническом и лабораторном обследовании не было обнаружено патологии печени, средний возраст - 37,29±10,14 лет, из них 58 женщин и 42 мужчины.

Всем пациентам проводилось лабораторное обследование, включавшее стандартные общеклинические тесты и оценку биохимических показателей (АЛТ, АСТ, ГГТП, ЩФ, фракций билирубина, липидный спектр, общий белок и альбумин, тимоловая проба, глюкоза). Наряду с общеклиническими исследованиями для достижения поставленных задач мы применяли *специально разработанный диагностический лабораторный комплекс*, включающий в себя оценку следующих показателей в крови: прямого маркера фиброза печени ГК, уровня АФП, активность ПОЛ по уровню МДА, активность антиоксидантных ферментов каталазы и ГЛП, параметры обмена железа (сывороточное железо, ферритин, ОЖСС), факторы роста ВЭФР и Г-КСФ, провоспалительные цитокины ФНО-α, ИЛ-6 и ИЛ-17, метаболические тесты (липидный спектр, глюкоза, С-пептид, лептин, инсулин, HOMA-IR), однонуклеотидные полиморфизмы генов гиалуроновой кислоты *HAS1* (G/A), каталазы *CAT* (G262A), глутатион-

пероксидазы *GPX4* (C718T), васкулоэндотелиального фактора роста *VEGFA* (G-634C), интерлейкина-28B *IL28B* (C/T) и интерлейкина-17 *IL17F* (C11139G) и аполипопротеина-B *ApoB* (R3500Q).

В качестве референсного метода оценки выраженности фиброза была использована УЗЭ печени с помощью аппарата Fibroscan 502 (Echosens, Франция) с оценкой по шкале «METAVIR». Пункционная биопсия печени с целью уточнения морфологического диагноз в спорных случаях была выполнена 20 пациентам.

У 110 больных ХГС с определенной длительностью заболевания и стадией фиброза (выраженность фиброза в печени) по результатам УЗЭ печени, была рассчитана СРФ, как соотношение стадии фиброза (в баллах) к длительности заболевания (в годах) по методу T. Poynard (1997) [312]. Данный показатель является количественным отражением темпа прогрессирования ФП.

Для оценки влияния терапии интерферонами короткого и пролонгированного действия на обратное развитие фиброза больные ХГ были разделены на две группы по 20 и 30 человек в каждой для проведения индивидуальной схемы терапии. Первая группа больных ХГ (n=20) получали пролонгированный интерферон ПегИнтрон (Пег-ИФН-α-2b) (Schering-Plough Ltd. США) в виде п/к инъекций в дозе 1-1,5 мкг/кг 1 раз в неделю. Вторая группа пациентов (n=30) получали отечественный препарат короткого действия Альтевир (интерферон альфа-2b) (ОАО «Фармстандарт», Россия) внутримышечно через день по 3 млн. Ед. Все пациенты в качестве комбинирующего препарата получали отечественный противовирусный препарат Рибавирин («Фармстандарт», Россия) внутрь ежедневно в индивидуально подобранных дозах в зависимости от массы тела. Дозировка рибавирина рассчитывалась в соответствии с инструкцией по применению препарата.

Длительность терапии интерферонами составляла во всех группах 24 недели при генотипах HCV-2 и HCV-3 и 48 недель - при генотипе HCV-1 [36]. У всех больных на момент окончания лечения оценивали лабораторные и инструментальные маркеры фиброза, медиаторы воспалительного процесса, тесты

ПОЛ и АОС, метаболические показатели, динамику СРФ, клинические и биохимические параметры, вирусологический ответ.

По данным УЗЭ у 40% пациентов с ХГ фиброза не наблюдалось (F0). Фиброз первой степени (F1) был выявлен у 35 (23%) человек. Вторая стадия ФП (F2) была диагностирована у 25 (17%) участников исследования, третья стадия (F3) – у 10 (7%) пациентов. Фиброз четвертой стадии (F4), что соответствует ЦП в исходе ХГС имели 23 (15%) больных. Анализ распределения генотипов HCV в подгруппе больных с отсутствием фиброза (F0) и у пациентов со стадиями F1-4 не выявил достоверной разницы в частоте встречаемости HCV-1, HCV-2 и HCV-3 (p=0,78). В среднем в группе больных по данным УЗЭ плотность печени составила 6,8 (5,5; 8,9) кПа. Выявлено нарастание фиброза по мере увеличения возраста, особенно значимо при переходе в выраженную стадию (F3) из умеренной (F1–2) (p=0,04), что подтверждается корреляционным анализом между возрастом и стадией заболевания (r=0,27; p=0,01). У мужчин наблюдались более выраженные признаки ФП в сравнении с женщинами (p=0,03), что также подчеркивают другие авторы [27, 39].

Клиническая симптоматика в группе пациентов с ХГ в целом нарастала с увеличением стадии фиброза, однако была достаточно вариабельна. Если при легком ФП доминировали субъективные жалобы и клинические признаки активности заболевания, то при ЦП в исходе ХГ у части больных отмечались явления портальной гипертензии.

Уровень ГК в сыворотке крови пациентов с ХГ составил в среднем 35,4 (19,3; 61,1) нг/мл, АФП - 2,3 (1,59; 3,5) МЕ/мл, что было значимо выше чем в контрольной группе (p=0,01 и p=0,02, соответственно). Статистически достоверных различий сывороточных значений ГК и АФП у мужчин и женщин с ХГ не найдено (p=0,4 и p=0,92, соответственно). Определение ГК в сыворотке крови позволяло стратифицировать все стадии ФП при ХГ, а оценка маркера регенерации гепатоцитов АФП – дифференцировать выраженный фиброз от умеренного, а также верифицировать ЦП в исходе ХГ, что частично согласуется с данными других авторов, по мнению которых, главная ценность ГК заключается в

возможности дифференцировать умеренный (F1-F2) и продвинутый (F3 - F4) фиброз и ЦП. Оба эти показателя по результатам многих исследований значимо повышаются при тяжелых стадия ФП [20, 27, 31, 89, 175, 234, 299, 343]. Следует также отметить наличие ассоциации выраженности процессов фиброза и регенерации гепатоцитов с синдромом холестаза при ХГ. Параметры фиброза у пациентов с разными генотипами вируса не имели достоверных различий. Однако, у лиц, инфицированных HCV-1 отмечались более выраженные процессы регенерации в печени по данным уровня АФП (p=0,04), что согласуется с другими исследованиями, в которых авторы находили увеличение концентрации АФП по мере прогрессирования гепатита С, вызванного генотипом HCV-1 [27, 110]. Уровень ГК в сыворотке крови больных с высокой ВН в 1,3 раза превышал значения этого показателя у пациентов с низким уровнем вирусемии (p=0,04). То есть, повышение ВН сопровождается активацией выработки ГК.

У больных АЦП медиана концентрации ГК в крови в 2,5 раза превышала уровень показателя при ЦП в исходе ХГС (F4) (p=0,001), а значения АФП не имели достоверных отличий (p=0,13).

В группе с ХГ найдена прямая умеренная корреляционная связь значений ГК и АФП с плотностью печени по данным УЗЭ (r=0,79; p<0,001 и r=0,53; p<0,001, соответственно), возрастом (r=0,61; p<0,001 и r=0,45; p=0,01, соответственно), а также есть прямая взаимосвязь параметров ГК и АФП (r=0,3; p=0,03). У пациентов с АЦП также была выявлена достоверная взаимосвязь ГК с АФП (r=0,41; p=0,03) и возрастом больных (r=0,4; p=0,03).

Полученные данные свидетельствуют, что прогрессирование процессов фиброза при патологии печени связано с активацией репаративных механизмов при ее хроническом воспалении, что проявляется увеличением сывороточных уровней ГК и АФП, отражающих степень повреждения ткани печени.

По данным биохимических и общеклинических тестов у 67% больных ХГ регистрировался синдром цитолиза разной степени выраженности, у 25 % был выявлен синдром холестаза, тромбоцитопения наблюдалась у 15% пациентов. Увеличение выраженности ФП при ХГ сопровождалось снижением количества

тромбоцитов и концентрации альбумина в крови, что подтверждается наличием обратную корреляции этих параметров со значениями плотности печени по данным УЗЭ ($p<0,001$ и $p<0,001$, соответственно).

В группе пациентов с АЦП практически все биохимические тесты были значимо изменены. Регистрировались выраженные признаки холестаза по данным общего ($p=0,001$) и прямого билирубина ($p=0,001$), ГГТП ($p=0,01$) и ЩФ ($p=0,02$), нарушения белковосинтетической функции печени по уровню общего белка ($p=0,01$) и гипоальбуминемии ($p=0,002$), а также более выраженная тромбоцитопения ($p=0,02$) в сравнении с ЦП в исходе ХГС. Показатель фиброза ГК прямо коррелировала с маркером холестаза ГГТП ($r=0,53$; $p=0,01$) и обратно – с альбумином ($r =-0,51$; $p=0,01$) и тромбоцитами ($r=-0,56$; $p=0,001$).

Таким образом, уровень альбумина и количество тромбоцитов отражают процессы прогрессирования фиброза в цирроз, независимо от этиологического фактора, что подтверждается их корреляциями с параметрами фиброза.

При анализе системы ПОЛ и ферментов АОС у 85% больных ХГ выявлено увеличение концентрации МДА ($p<0,001$), снижение активности каталазы ($p<0,001$) и ГЛП у 89% пациентов ($p<0,001$) в сравнении с группой практически здоровых лиц, что свидетельствует об активации процессов пероксидации липидов и истощении антиоксидантной защиты у больных ХГ в стадии активации и отчасти согласуется с мнением других авторов [24, 80, 208, 250]. При этом, у больных с HCV-1 выявлены более низкие концентрации ГЛП в сыворотке крови, чем у пациентов с HCV-2 и HCV-3 ($p=0,04$). А при высокой вирусемии и у пациентов с повышенным уровнем трансаминаз регистрировалась более низкая активность каталазы ($p=0,04$ и $p=0,04$, соответственно), что свидетельствует о снижении выработки этого фермента на фоне нарастания цитолиза гепатоцитов и репликации вируса и подтверждается наличием достоверных обратных корреляций каталазы с трансаминазами и ВН ($p=0,03$). При оценке значений МДА в зависимости от выраженности ФП при ХГ значимые различия выявлены только для стадий F3 и F4 ($p=0,02$). То есть, переход фиброза в ЦП при вирусном

гепатите характеризуется усилением процессов пероксидации липидов с повышением уровня МДА.

У пациентов с АЦП также имелись признаки активации процессов ПОЛ при истощении механизмов антиоксидантной защиты. При этом, выраженность активации процессов пероксидации липидов по уровню МДА при алкогольном генезе ЦП значимо больше, чем у пациентов с ЦП в исходе вирусного гепатита ($p<0,001$).

Таким образом, прогрессирование поражения печени взаимосвязано с усилением процессов пероксидации липидов и повышением уровня МДА, более зачимом при алкогольном генезе, при одновременном истощении механизмов антиоксидантной защиты со снижением выработки ферментов каталазы и ГЛП. При этом, активация процессов ПОЛ по уровню МДА имеет максимальную выраженность на стадии ЦП, как в исходе вирусного, так и алкогольного гепатита.

У больных ХГ показатели сывороточного железа и ОЖСС достоверно не отличались от группы контроля. Однако, у отдельных пациентов эти параметры были повышены. Концентрация ферритина у 29% больных превышала этот показатель у практически здоровых лиц ($p=0,001$). Вероятно, это свидетельствует о развитии вторичного гемосидероза вследствии нарушения обменных функций печени и депонировании макрофагами печени железа, и согласуется с данными, полученными в других исследованиях [11, 31, 56, 71, 94, 207]. При этом, у мужчин значения ферритина были в 2 раза выше, чем у женщин ($p=0,04$). Значения ферритина повышалась по мере нарастания интенсивности цитолиза ($p=0,04$) и выраженности ФП, что позволяло исключать ФП ($p=0,03$), а также дифференцировать выраженную стадию (F3) от ЦП в исходе ХГ ($p=0,01$). Это, по-видимому, связано с увеличением нарушений метаболизма железа при прогрессировании фиброза, что подтверждалось наличием достоверных прямых взаимосвязей ферритина с АЛТ ($r=0,31$; $p=0,02$) и плотностью печени ($r=0,35$; $p=0,02$).

У пациентов с АЦП показатели сывороточного железа и ОЖСС достоверно не отличались от группы контроля (p=0,66 и p=0,49, соответственно) и от стадии ЦП в исходе вирусного гепатита (p=0,67 и p=0,15, соответственно). При этом, концентрация ферритина при АЦП была значимо выше, чем у пациентов с переходом вирусного гепатита в цирроз (p=0,01). В группе с АЦП ферритин прямо коррелировал с АФП (r=0,61; p=0,02), МДА (r=0,55; p=0,03) и обратно – с активностью каталазы (r=-0,52; p=0,03) и ГЛП (r=-0,45; p=0,03), что свидетельствует об увеличении нарушений метаболизма железа на фоне усиления процессов регенерации, нарастания ПОЛ и истощения механизмов антиоксидантной защиты.

Таким образом, прогрессирование фиброза в цирроз при ХЗП взаимосвязано с нарушением процессов обмена железа преимущественно в виде повышения концентрации ферритина, причем в значительной мере у мужчин.

По результатам ИФА у больных ХГ было установлено повышение сывороточных концентраций факторов роста и провоспалительных цитокинов. Показатель ВЭФР был увеличен у 74% больных в 4 раза (p<0,001). Цитокины ФНО-α и ИЛ-6 были повышены у 73% и 47% больных ХГ (p=0,001и p=0,01, соответственно). Достоверных различий значений Г-КСФ и ИЛ-17 у пациентов в сравнении с контрольной группой не было получено. Однако, повышение сывороточной концентрации Г-КСФ было зарегистрировано у 24% больных, а уровень ИЛ-17 был повышен у 14% лиц. То есть, активация ХГ обусловлена стимуляцией процессов воспаления и неоангиогенеза с увеличением выработки провоспалительных цитокинов. Отмечены достоверные различия между уровнями ФНО-α и ИЛ-6 в группах больных с разной активностью АЛТ, что указывает на наличие зависимости биологических эффектов провоспалительных цитокинов от их концентрации и согласуется с результатами, полученными в других исследованиях [41, 83, 84, 185].

Следует отметить, что подьем сывороточных концентраций данных цитокинов наблюдался также на фоне нормальных и низких значений АЛТ, свидетельствуя о том, что ФНО-α и ИЛ-6 являются ранними маркерами

повреждения печени. Концентрация факторов роста и цитокинов в сыворотке крови больных ХГ по большей части повышалась по мере увеличения выраженности ФП. Так, уровень ВЭФР у пациентов с выраженным фиброзом (F3) был значимо выше, чем при стадиях F1-2 (p=0,01), а также имел достоверные различия у больных с F0 умеренного фиброза (p=0,03). Концентрация Г-КСФ в сыворотке крови больных значимо повышалась на стадиях тяжелого фиброза F3 (p=0,01) и F4 (p=0,03). Провоспалительные цитокины ФНО-α и ИЛ-6 также значимо увеличивались по мере прогрессирования ФП.

У пациентов с АЦП провоспалительные цитокины ФНО-α и ИЛ-6 были повышены в 100% случаев, ВЭФР и Г-КСФ - у 70% лиц. Уровни ВЭФР, Г-КСФ и ФНО-α у лиц с АЦП не имели достоверных отличий от показателей при ЦП в исходе ХГС (p=0,33; p=0,17 и p=0,36 соответственно). При этом, медиана концентрации ИЛ-6 у лиц с ЦП алкогольной этиологии в 4,5 раза была выше, чем при ЦП в исходе вирусного гепатита (p<0,001).

Таким образом, прогрессирование фиброза при ХЗП ассоциировано с гиперпродукцией факторов роста ВЭФР и Г-КСФ и провоспалительных цитокинов ФНО-α и ИЛ-6. Это подтверждается прямыми корреляциями ВЭФР, Г-КСФ, ФНО-α и ИЛ-6 у больных ХГ с плотностью печени по УЗЭ (p=0,001, p=0,01, p<0,001 и p=0,001, соответственно), взаимосвязями ФНО-α и ИЛ-6 с АЛТ (p=0,02 и p=0,004), ИЛ-6 с ГГТП (p=0,01) и ферритином (p=0,03), ФНО-α с ВН (p=0,01). В группе пациентов с АЦП найдены прямые корреляции ВЭФР, Г-КСФ, ФНО-α и ИЛ-6 с ГК (p= 0,004, p=0,03, p=0,01 и p=0,02, соответственно). Таким образом, нарушение структуры печени с развитием в ней цитолитических, холестатических, фибротических и цирротических изменений, а также активация перестройки сосудистой архитектоники связано с уровнем продукции ВЭФР, Г-КСФ и провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ФНО-α, а их сывороточная концентрация отражает степень повреждения ткани печени. Аналогичные предположения частично были высказаны и в других работах [42, 47, 112, 127].

Метаболические показатели у больных ХГ находились в переделах референтных значений. Однако, у 20% пациентов был повышен уровень ТГ

(p=0,002), у 36% больных - ЛПОНП (p=0,02) и ИА (p=0,013) относительно группы практически здоровых лиц. На фоне этого, содержание ХС, ЛПВП и ЛПНП было сопоставимо с параметрами контрольной группы. Таким образом, у 30% пациентов с ХГ имеются отклонения в липидном спектре крови, что свидетельствует о наличии атерогенного риска у данной категории больных и согласуется с данными других авторов [14, 266]. У 36% пациентов с ХГ было зарегистрировано повышение уровня инсулина (p=0,02), индекса HOMA-IR (p=0,02), С-пептида в 48% случаев (p=0,04) и лептина у 13% больных (p=0,001). У мужчин наблюдались более низкие концентрации ЛПВП (p<0,001) и повышенные значения ИА (p=0,003). У женщин был значимо выше уровень ХС (p=0,001) и концентрация лептина (p=0,01). При исследовании метаболических показателей в зависимости от выраженности вирусемии у пациентов с высокой вирусемией регистрировались повышенные значения инсулина (p=0,008) и индекса HOMA-IR (p=0,04), что свидетельствует о наличие влияния вирусного фактора на механизм развития стеатоза.

При сравнительном анализе метаболических параметров в зависимости от выраженности фиброза при наличии изменений, соответствующих стадии ЦП в исходе ХГ регистрировались значимо более низкие концентрации ХС (p=0,03) и глюкозы (p=0,03), повышенные значения инсулина (p=0,01), лептина (p=0,04) и уровня С-пептида (p=0,04).

По нашему мнению, прогрессирование ФП при ХГ вирусной этиологии ведет к увеличение выраженности метаболических нарушений: нарушается обмен глюкозы, снижается синтез холестерина, повышается уровень инсулина и С-пептида за счет снижения депонирования инсулина в печени, что говорит в пользу «вирус-индуцированного» механизма этих нарушений. Корреляционный анализ выявил при ХГ многочисленные достоверные взаимосвязи метаболических показателей с биохимическими параметрами, тестами ПОЛ и антиоксидантными ферментами, цитокинами и плотностью печени.

У большей части больных АЦП в сравнении с группой контроля была диагностирована гипогликемия (p=0,01) и нарушения параметров липидного

спектра крови в виде снижения уровня ХС (p=0,03) и ЛПВП (p<0,001), повышения концентрации ТГ (p=0,01) и ИА (p=0,001). Метаболические нарушения у пациентов с ЦП алкогольного и вирусного генеза были в основном сходными. Различия были выявлены только по уровню инсулина, С-пептида и летина, значения которых у больных при переходе вирусного гепатита в цирроз были значимо выше, чем у пациентов с АЦП, что возможно объясняется «вирус-индуцированным» механизмом.

Таким образом, нарушения метаболических тестов, преимущественно в виде повышения уровня ТГ, инсулина, индекса HOMA-IR, С-пептида и лептина наблюдались у 30% больных ХГ. Более выраженные метаболические нарушения в виде уменьшения концентрации ХС, гиперинсулинемии, гиперлептинемии и повышения уровня С-пептида маркировали переход ХГ в цирроз. Наличие положительных корреляций инсулина и показателя инсулинорезистентности с высоким уровнем вирусемии указывает на усугубление метаболических нарушений в фазе реактивации процесса. При АЦП метаболические нарушения проявлялись в виде гипогликемии, гипохолестеринемии, гипертриглицеридемии, что по-видимому обусловлено снижением синтетической функции печени.

Изучение влияния исследуемых факторов на скорость прогрессирования фиброза печени происходило на модели ХГ. Для этого были комплексно проанализированы данные анамнеза и установлена предполагаемая длительность заболевания у 110 лиц, которая в среднем составляла 5,96±3,49 лет. У мужчин средняя длительность заболевания была короче, чем у женщин (p=0,04). При изучении предполагаемого периода инфицирования в зависимости от выраженности фиброза достоверное его нарастание было выявлено от стадии F3 (7,7+4,0 года) к F4 (11,3+5,9 лет) (p=0,01), что подтверждалось взаимосвязью между длительностью инфицирования и выраженностью фиброза в печени по данным УЗЭ (p=0,01).

У всех пациентов с определенной длительностью инфекции и стадией заболевания (выраженность фиброза в печени) по результатам УЗЭ печени, была рассчитана СРФ, как соотношение стадии фиброза (в баллах) к длительности

заболевания (в годах) [312], что позволило нам выделить быстрый (до 10 лет) и медленный (более 10 лет) темпы прогрессирования фиброза в ЦП при ХГ. В нашем исследовании СРФ в среднем составила 0,19±0,18 балла/год (от 0 до 2 баллов/год). Следует отметить, что у больных ХГ с начальным фиброзом (F1) средняя СРФ была достоверно ниже (0,21±0,13 балла/год), чем у пациентов с последующими стадиями заболевания: F2 - 0,44±0,31 балла/год (p=0,01), F3 - 0,53±0,4 балла/год (p=0,01), F4 - 0,51±0,03 балла/год (p=0,69). То есть, темпы прогрессии фиброза нарастают по мере возрастания его стадии. У мужчин СРФ почти в 2 раза превышала данный показатель у женщин (p=0,04). Это согласуется с утверждением о более выраженном темпе прогрессии фиброза у мужчин, высказанных другими исследователями [27, 212].

Далее пациенты были условно разделены на две группы по СРФ. В первую группу вошли 67 (61%) пациентов с медленной СРФ (<0,19 балла/год), а во вторую группу включены 43 (39%) больных с высокой СРФ (>0,19 балла /год). Скорость развития фиброза в группе с медленным темпом прогрессирования заболевания составила в среднем 0,02±0,02 балла/год, у пациентов с быстрым темпом прогрессирования заболевания – 0,45±0,34 балла/год (p<0,001). Длительность заболевания в группе с медленным темпом прогрессирования ФП составила в среднем 6,65±3,1 лет, у больных с быстрым темпом прогрессирования фиброза – 5,1±3,6 лет (p = 0,02). При медленной СРФ 84% пациентов имели стадию F0. В группе с быстрой прогрессией заболевания 50% больных имели тяжелые стадии фиброза (F3-F4).

У больных с высокой СРФ ожидаемо регистрировались достоверно большие значения плотности печени по данным УЗЭ (p<0,001). Сывороточные уровени ГК и АФП при быстром темпе прогрессии ХГ были выше, чем при медленной СРФ (p<0,001 и p=0,03, соответственно). Корреляционный анализ подтвердил наличие прямых достоверных взаимосвязей темпа прогрессирования фиброза с плотностью печени (r=0,86; p<0,001), ГК (r=0,6; p<0,001) и АФП (r=0,49; p=0,001). То есть, прогрессирование фиброза при ХГ характеризуется активацией механизмов регенерации в печени.

При анализе биохимических показателей в группах больных с медленной и высокой СРФ значимых различий получено не было. Для пациентов с быстрым темпом прогрессии фиброза были характерны: достоверно более низкая активность каталазы (p=0,04), повышенный уровень сывороточного железа (p=0,03), ферритина (p=0,03) и ВЭФР (p=0,03). Эти данные частично согласуются с результатами, полученными в других исследованиях, в которых у пациентов с быстрой прогрессией фиброза регистрировался достоверно больший уровень сывороточного железа, который прямо коррелировал с темпом прогрессирования фиброза [27]. Корреляционный анализ подтвердил наличие прямых достоверных взаимосвязей темпа прогрессии фиброза с уровнем ферритина (p=0,04) и концентрацией ВЭФР (p=0,04), что свидетельствует о нарушении метаболизма железа и активации процессов неоангиогенеза при прогрессировании фиброза. У больных ХГ с высокой СРФ отмечался достоверно более низкий уровень глюкозы (p=0,002), что может быть следствием снижения синтеза гликогена в печени и подтверждался наличием обратной достоверной взаимосвязи темпа прогрессирования фиброза с концентрацией глюкозы ($r=-0,65$; $p<0,001$). Это не согласуется с данными других исследований, в которых при быстром темпе прогрессирования фиброза имело место повышение концентрации глюкозы [27].

Полученные данные свидетельствуют, что прогрессирование фиброза связано с активацией механизмов регенерации, сосудистой перестройки и неоангиогенеза в печени, нарастанием нарушений обмена железа, снижением базального уровня глюкозы и истощением антиоксидантной защиты. Следовательно, при прогрессировании фиброза изменяются различные функциональные печеночные тесты, что объясняет включение прямых и непрямых маркеров фиброза в фибропанели.

Для построения математической модели, учитывающей индивидуальную совокупность лабораторных предикторов прогрессирования фиброза и позволяющих установить стадию фиброза печени, был использован метод множественной регрессии. В качестве зависимой переменной выступала плотность печеночной ткани по данным УЗЭ, а в качестве предикторов

(независимых переменных) – параметры, имеющие наибольшую статистически значимую взаимосвязь с выраженностью фиброза. Решение уравнения позволяло получить прогнозируемое значение плотности печени, именуемое в дальнейшем «индекс фиброза» (ИФ) и дифференцировать подгруппы с различными стадиями фиброза на модели ХГС. Оценку предсказательной ценности маркеров развития ФП и выбор их пороговых значений проводили с помощью ROC-анализа и построением графиков ROC-кривых.

В рамках данного исследования для стратификации стадии ФП при ХГС были рассчитаны пороговые значения прямого сывороточного лабораторного маркера фиброза в печени ГК, которые составили: чувствительность – 86,4%, специфичность – 91,9% при показателях воспроизводимости и соответствия 80,9 и 88,9%. Площадь ROC-кривой ГК, как предиктора ФП составила AUC 0,94±0,03 (доверительный интервал 0,86-0,98), $p<0,001$. Индекс Юдена для данного показателя равнялся 0,85. Оптимальное пороговое значение ГК для исключения ФП составило 42 нг/мл при чувствительности – 91,9% и специфичности – 93,2%. Стадия умеренного ФП (F1-2) устанавливается при уровне ГК в более 42 нг/мл и менее или равном 70,3 нг/мл, стадия выраженного ФП (F3) - при содержании ГК более 70,3 нг/мл и менее или равном 104,3 нг/мл, ЦП в исходе ХГ диагностируется при уровне ГК более 104,3 нг/мл.

В рамках данного исследования также была установлена корреляционная связь плотности печеночной ткани по данным УЗЭ с тремя лабораторными параметрами крови: тромбоцитами ($r=0,9$), ФНО-α ($r=0,89$) и альбумином ($r=0,9$), которые были включены в математическую модель диагностики стадии ФП. Построение уравнения расчета ИФ печени было выполнено на модели 70 пациентов с ХГС, из которых у 25 человек по данным УЗЭ фиброза не было (F0), 32 больных имели умеренный ФП (F1-2), у 13 пациентов наблюдался выраженный фиброз стадий F3-4. Формула для его расчета имеет вид:

$$\textit{ИФ}=3,79-0,0056\times\textit{ТР}+0,0855\times\textit{ФНО-}\alpha-0,0352\times\textit{АЛЬБУМИН}.$$

Значение индекса фиброза в интервале от 0 до 0,5 включительно свидетельствует об отсутствии фиброза (стадия F0) при ХГ, индекс фиброза в

интервале от 0,6 до 2,5 включительно соответствует умеренной стадии фиброза (F1-2), более 2,5 диагностирует выраженную стадию фиброза (F3-4). Диагностическая чувствительность данной математической модели составила 93,3%, специфичность – 83%, стоимость - 450 - 500 руб. Получена приоритетная справка на изобретение «Способ диагностики стадии фиброза печени у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С» заявка № 2015-121-005 от 20.06.2015.

Для оценки предсказательной ценности значимых маркеров ФП и выбора их пороговых значений были построены графики ROC кривых для параметров тромбоцитов, альбумина и ФНО-α. Площадь ROC-кривой тромбоцитов для составила AUC 0,95±0,02 (доверительный интервал 0,86-0,99), $p<0,001$. Индекс Юдена для данного показателя составил 0,78. Пороговое значение тромбоцитов для исключения ФП – 282×10^9/л (чувствительность – 100%, специфичность – 77,8%). Площадь ROC-кривой альбумина для прогнозирования риска прогрессирования ФП составила AUC 0,86±0,04 (доверительный интервал 0,76-0,93), $p<0,001$. Индекс Юдена для данного показателя равнялся 0,69. Пороговое значение альбумина для исключения фиброза – 47,3 г/л (чувствительность – 96%, специфичность – 73,3%). Площадь ROC-кривой ФНО-α для прогнозирования риска прогрессирования ФП составила AUC 0,90±0,03 (доверительный интервал 0,80- 0,96), $p< 0,001$. Индекс Юдена для данного показателя равнялся 0,73. Пороговое значение ФНО-α для исключения фиброза – 1,9 пг/мл (чувствительность – 100%, специфичность – 73,3%). Стадия умеренного ФП (F1-2) устанавливается при количестве тромбоцитов в крови более или равном 200×10^9/л и менее 282×10^9/л, уровне альбумина более или равном 44,1 г/л и менее 47,3 г/л и значении ФНО-α более 1,9 пг/мл и менее или равном 2,8 пг/мл. Стадия выраженного ФП (F3-4) верифицируется при количестве тромбоцитов в крови менее 200×10^9 /л, уровне альбумина менее 44,1 г/л и значении ФНО-α более 2,8 пг/мл.

В рамках данного исследования установлена значимая корреляционная связь темпа прогрессии фиброза с ГК ($r=0,6$; $p<0,001$), АФП ($r=0,49$; $p=0,001$) и глюкозой ($r=-0,65$; $p<0,001$), которые были рассмотрены нами в качестве

предикторов прогрессирования ФП на модели ХГС. Площадь ROC-кривой для ГК, как предиктора прогрессирования фиброза составила AUC 0,95±0,02 (доверительный интервал 0,88-0,98), p<0,001. Индекс Юдена для данного показателя равнялся 0,84. Оптимальное пороговое значение ГК для дифференциации темпа прогрессирования ФП – 40,4 нг/мл при чувствительности – 97,1% и специфичности – 87%. Площадь ROC-кривой для АФП, как предиктора прогрессирования фиброза составила AUC 0,95±0,02 (доверительный интервал 0,88-0,98), p<0,001. Индекс Юдена для данного показателя равнялся 0,84. Пороговое значение АФП для дифференциации темпа прогрессирования ФП составило 2,14 МЕ/мл при чувствительности и специфичности 94,4 и 78,1% соответственно. Площадь ROC-кривой для глюкозы, как предиктора прогрессирования фиброза составила AUC 0,99±0,01 (доверительный интервал 0,89-1,00), p<0,001. Индекс Юдена для данного показателя равнялся 0,96. Пороговое значение глюкозы для дифференциации темпа прогрессирования ФП – 4,1 ммоль/мл при чувствительности – 100% и специфичности – 85,7%. То есть, высокий темп прогрессирования фиброза при ХГ прогнозируется при концентрации ГК в крови более 40,4 нг/мл, уровне АФП более 3,14 МЕ/мл и значении глюкозы менее 4,1 ммоль/л.

Оценку предсказательной ценности маркеров риска ЦП и выбор их пороговых значений проводили с помощью ROC-кривых на модели из 80 больных ХГС. Исследуемую выборку разбили на 2 группы: стадии фиброза F1-3 (n=60) и доклиническая стадия ЦП в исходе ХГС (n=23). В рамках данного исследования была установлена корреляционная связь плотности печеночной ткани по данным УЗЭ с маркером регенерации АФП (r=0,53), цитокинами ИЛ-6 (r=0,39) и Г-КСФ (r=0,41), которые имеют хорошую предсказательную ценность для диагностики ЦП в исходе ХГС (F4).

Площадь ROC-кривой для АФП, как предиктора ЦП составила AUC 0,90±0,04 (доверительный интервал 0,78- 0,97), p<0,001. Индекс Юдена для данного показателя равнялся 0,63. Оптимальное пороговое значение АФП для дифференциации стадии F4 от F1-3 – 5,13 МЕ/мл при чувствительности – 70% и

специфичности – 93,1%. Площадь ROC-кривой для ИЛ-6, как предиктора ЦП составила AUC 0,93±0,03 (доверительный интервал 0,86-0,98), p<0,001. Индекс Юдена для данного показателя равнялся 0,72. Пороговое значение ИЛ-6 для дифференциации стадии F4 от F1-3 – 4,4 пг/мл при чувствительности – 81,8% и специфичности – 88,9%. Площадь ROC-кривой для Г-КСФ, как предиктора ЦП составила AUC 0,92±0,03 (доверительный интервал 0,81-0,97), p<0,001. Индекс Юдена для данного показателя равнялся 0,72. Пороговое значение Г-КСФ для дифференциации стадии F4 от F1-3 – 14,8 пг/мл при чувствительности – 93,7% и специфичности – 78,4%.

Таким образом, ЦП в исходе ХГС диагностируется при сывороточной концентрации АФП более 5,13 МЕ/мл, уровне ИЛ-6 более 4,4 пг/мл и значении Г-КСФ более 14,8 пг/мл. Причем, данные предикторы можно использовать, как по отдельности, так и в совокупности для увеличения предсказательной ценности в отношении верификации перехода ХГС в цирроз.

Учитывая значимый эффект вирусного поражения на фиброгенез в печени, а также возможность использования специфической терапии на обратное развитие ФП, нами проведено исследование, направленное на выявление полиморфизмов генов, ответственных за хронизацию и прогрессирование вирусного процесса.

В настоящем исследовании мы сравнили наличие однонуклеотидной замены в генах гиалуроновой кислоты *HAS1* (G/A), каталазы *CAT* (G262A), глутатион-пероксидазы *GPX4* (C718T), аполипопротеина- В *ApoB* (R3500Q), интерлейкина *IL28B* (C/T), интерлейкина *IL17F* (C11139G), васкулоэндотелиального фактора роста *VEGFA* (G-634C) у 142 человек в Пермском крае (50 доноров без хронических заболеваний печени и 92 пациентов с ХГС). При этом преследовали следующие цели:

1. Проанализировать распространенность аллельных пар в полиморфных локусах исследуемых генов в группах здоровых доноров и больных ХГ для выявления доминантного (преобладающего) аллеля и генотипа и минорного аллеля. При достоверном увеличении частоты встречаемости минорного

аллеля в виде гомозиготы или гетерозиготы у пациентов с ХГС ($p<0,05$) и высокой вероятности развития события (OR ≥1,0), данный аллель считался аллелем риска хронизации данного заболевания.

2. Проанализировать распространенность аллельных пар в полиморфных локусах исследуемых генов у больных по гендерному признаку, в зависимости от генотипа вируса, уровня вирусемии и темпов прогрессии ФП. Если в патологической группе наблюдалась достоверно большая частота встречаемости минорного аллеля в виде гомозиготы или гетерозиготы у пациентов с ХГС (при OR ≥1,0), то с большой долей вероятности данный аллель в минорной аллельной паре можно считать аллелем риска прогрессирования заболевания, а при наличии ассоциаций минорных аллелей с прогрессированием ФП определять эти аллели, как «профибротические».
3. Определить зависимости между изучаемыми качественными признаками с целью оценки возможного негативного влияния полиморфизмов изучаемых генов на продукцию исследуемых факторов сыворотки крови (повышение/понижение) по таблице сопряженности (кросстабуляции). То есть, выявить ассоциации аллельных вариаций изучаемых генов с концентрацией определяемых нами патогенетически значимых молекул при ХГС.
4. Провести анализ сочетанного влияния полиморфизмов исследуемых генов на темпы прогрессирования фиброза печени.

При изучении распространенности генотипов и аллелей полиморфизма гена *HAS1* (G/A) в исследуемых группах здоровых и больных ХГС в Пермском крае преобладал генотип GG ($p=0,53$) и доминантный аллель G ($p=0,45$). При анализе полиморфизма гена каталазы *CAT* (G262A) практически с одинаковой частотой выявлялся гомозиготный GG ($p=0,65$) или гетерозиготный генотип GA ($p=0,71$). При изучении комбинаций аллельных вариантов гена *GPX4* (C718T) в исследуемых группах здоровых и больных преобладал генотип CC ($p=0,98$) и аллель C ($p=0,92$). Достоверных различий в частоте обнаружения минорного

аллеля Т гена *GPX4* (С718Т) в исследуемых группах также не было найдено (p=0,92). При изучении распространенности генотипов и аллелей полиморфизма гена *IL28B* в позиции rs12979860 в обеих исследуемых группах преобладал генотип СТ (p=0,43) и доминантный аллель С (p=0,45). Достоверных различий в частоте встречаемости генотипа ТТ (p=0,55) и минорного аллеля Т (p=0,43) гена *IL28B* (С/Т) в исследуемых группах также не было найдено. Полученные результаты частоты встречаемости генотипов гена *IL28B* в позиции rs12979860 сопоставимы с данными, полученными при обследовании в Нижегородской области пациентов с ХГС, у которых соотношение генотипов СС, СТ и ТТ составило 40, 44,3 и 15,7% соответственно [87]. Наши результаты также отчасти сопоставимы с результатами О.О. Знойко и соавт. (2011), которые указывают на частоту встречаемости генотипа *CC* (rs12979860) у пациентов с ХГС Московской области в 36,9% случаев. Однако, они находили достоверные различия в частоте встречаемости данного генотипа у пациентов с ХГС и доноров [32]. В анализируемых когортах здоровых и больных ХГС при исследовании полиморфизмов гена *ApoB* (R3500Q) и гена *IL17F* (C11139G) в 100% случаев были выявлены генотипы GG и CC соответственно. При изучении комбинаций аллельных вариантов гена *VEGFA* (G-634C) гомозигота СС была найдена только в группе пациентов с ХГС, а в популяции здоровых не встречалась (p<0,001). То есть, носительство аллеля С гена *VEGFA* (G-634C) преимущественно в виде гомозиготы СС является фактором риска хронизации гепатита С.

Далее в работе была проанализирована частота встречаемости полиморфизма исследуемых генов у у 43 (46,7%) мужчин и 49 (53,3%) женщин. Статистически значимые различия были получены для аллельных вариаций гена *VEGFA* (G-634C). Доминантный генотип GG чаще встречался у женщин (p=0,04), а гетерозигота GC чаще регистрировалась у мужчин по рецессивной модели наследования (p=0,04). То есть, имеется ассоциация минорной аллели С в виде генотипа GC гена *VEGFA* (G-634C) с мужским полом. Взаимосвязи между различными аллельными вариациями полиморфных локусов генов *HAS1* (G/A), *GPX4* (С718Т) и *IL28B* (С/Т) с полом больных не было выявлено. Эти результаты

согласуются с недавними исследованиями, в которых также авторами показано отсутствие различий в частоте определения генотипов гена *IL28B* (C/T) у пациентов по половому признаку [49].

В представленном исследовании была проанализирована частота встречаемости полиморфизма исследуемых у 45 (49,4%) больных с генотипом HCV-1 и 47 (50,6%) пациентов с HCV-2 и HCV-3 (6,8% и 43,8% соответственно). Однонуклеотидный полиморфизм в промоторной части в положении (C/T) влияет на экспрессию гена *IL28B.* При сравнении встречаемости различных аллельных вариаций гена *IL28B* (C/T) в группах с разными генотипами вируса были получены статистически значимые различия частоты обнаружения доминантной гомозиготы CC: в группе больных с генотипами HCV-2 и HCV-3 эта гомозигота встречалась в 1,85 раза чаще, чем у пациентов с HCV-1 (p=0,04). Гетерозигота CT достоверно с высокой вероятностью (p=0,04) была найдена у больных с генотипом HCV-1 с наследованием по рецессивному типу. То есть имеется ассоциация неблагоприятного аллеля T гена *IL28B* (C/T) с генотипом HCV-1. Взаимосвязи между различными аллельными вариациями полиморфных локусов генов *HAS1* (G/A), *CAT* (G262A), *GPX4* (C718T) и *VEGFA* (G-634C) с генотипами HCV не было выявлено.

Также была проанализирована частота встречаемости полиморфизмов изучаемых генов у 29 больных (31,5%) с низким уровнем ВН и у 63 пациентов (68,5%) с высокой вирусемией. Статистически значимые различия в группах в группах больных с разной ВН получены для аллельных вариаций гена *CAT* (G262A). Доминантный генотип GG чаще встречался в группе с низкой вирусемией по сравнению с высокой (p=0,02), гетерозигота GA с высокой вероятностью была найдена у пациентов с высокой ВН по рецессивной модели наследования (p=0,04). Отмечалось достоверное увеличение частоты встречаемости минорного аллеля A исследуемого гена у больных с высокой вирусемией по мультипликативной модели наследования (p=0,04). При высокой ВН генотип CT гена *GPX4* (C718T) встречался чаще, чем при низком уровне вирусемии по общей модели наследования (p=0,04). Также найдено достоверное

увеличение частоты встречаемости минорного аллеля Т исследуемого гена в группе больных с высокой ВН по мультипликативной модели наследования (p=0,02). Таким образом, выявленые ассоциации аллеля А гена *CAT* (G262A) и аллеля Т гена *GPX4* (C718T) с высоким уровнем вирусемии при ХГС, вероятно может повышать риск прогрессирования заболевания.

Кроме этого, был проведен анализ частоты встречаемости полиморфизмов исследуемых генов у 56 больных с медленной СРФ и у 36 пациентов с высокой СРФ. При анализе встречаемости аллельных вариаций гена *CAT* (G262A) генотип GA и так называемый «профиброгенный» аллель А с высокой вероятностью достоверно чаще определяли у пациентов с высокой СРФ (p=0,04 и p=0,04, соответственно) по рецессивной модели наследования. Генотип CT гена *GPX4* (C718T) с высокой вероятностью встречался чаще при быстром тепме прогрессирования фиброза по рецессивной модели наследования (p=0,04). Взаимосвязи между различными аллельными вариациями полиморфных локусов генов *HAS1* (G/A), *IL28B* (C/T) и *VEGFA* (G-634C) с высокой СРФ не было выявлено. Таким образом, при анализе встречаемости аллельных вариантов изучаемых генов в зависимости от темпа прогрессии фиброза у пациентов с ХГС выявлены ассоциации аллеля гена *CAT* +262A и аллеля гена *GPX4* +718T с высокой СРФ, что дает основание называть эти аллели «профиброгенными».

У больных, имеющих генотипы CT и TT гена IL28B (C/T) в сравнении с лицами с генотипом CC обнаружены значимо повышенные уровни АЛТ (72 (55; 115) Е/л и 43 (32; 96) Е/л; p=0,01), АСТ (46 (32; 72) Е/л и 31 (25; 48) Е/л; p=0,01), ГК (45,1 (30,9; 90,4) нг/мл и 30,6 (18,6; 42,5) нг/мл; p=0,005), ФНО-α (2,55 (1,5; 4,9) пг/мл и 1,65 (0,9; 2,9) пг/мл; p=0,04), ИЛ-6 (1 (0,2; 4,6) пг/мл и 0,3 (0; 2,5) пг/мл; p=0,04) и достоверно низкая активность каталазы (7,95 (4,7; 13) мкат/л и 11,65 (6,7; 14,7) мкат/л; p=0,04). У пациентов с генотипами GA и AA гена CAT (G262A) в сравнении с лицами, имеющими генотип GG, были зарегистрированы более высокие концентрации АФП (2,6 (2; 3,86) МЕ/мл и 1,8 (1,2; 2,8) МЕ/мл; p=0,04), а также достоверно низкие активности ферментов каталазы (6,7 (4,2; 10,6) мкат/л и 11,6 (7,2; 14,5) мкат/л; p=0,03) и ГЛП (6,9 (4,3; 11,2) мкмоль/л и 9,2 (5,1;

14,6) мкмоль/л; p=0,04). Лица с генотипами CT и TT гена GPX4 (C718T) в сравнении с пациентами с генотипами CC имели более высокие уровни АФП (2,7 (1,9; 3,6) МЕ/мл и 1,9 (1; 2,7) МЕ/мл; p=0,04), ИЛ-6 (0,8 (0,3; 6) пг/мл и 0,1 (0; 1,8) пг/мл; p=0,04) и МДА (9,9 (5,7; 11,8) мкмоль/л и 7,3 (3,8; 10,2) мкмоль/л; p=0,03). Больные ХГС с генотипами GA и AA гена VEGFA (G-634C) в сравнении с лицами с генотипом GG имели достоверно повышенные значения ВЭФР (389,5 (261; 692,7) пг/мл и 326,2 (206; 509) пг/мл; p=0,03). То есть, полиморфизмы генов *IL28B* (C/T), *CAT* (G262A), *GPX4* (rs713041) и *VEGFA* (G-634C) могут оказывать влияние на продукцию патогенетически значимых факторов, что приводит к активации патологических механизмов и вероятно прогрессированию поражения печени.

Эти данные подтверждаются наличием зависимости между изучаемыми качественными признаками, которое проводилось по таблице сопряженности (кросстабуляции). При этом, выявлена взаимосвязь полиморфизма гена *CAT* (G262A) со снижением активности ферментов каталазы (p=0,005) и ГЛП (p = 0,04). Найдены корреляции полиморфизма гена *GPX4* по локусу C718T с гиперпродукцией МДА, что может приводить к активации процессов пероксидации липидов и прогрессированию заболевания. При анализе гена *VEGFA* в локусе G-634C наблюдалась зависимость с увеличением выработки ВЭФР (p=0,035), участвующего в активации механизмов сосудистой перестройки, неоангиогенеза, эндотелиальной дисфункции, что приводит к прогрессированию фиброза. Это подтверждает нашу гипотезу о возможном негативном влиянии полиморфизмов исследуемых генов на характер течения заболевания и должно учитываться при прогнозировании течения ХГС.

Для оценки риска прогрессирования ХГС и фиброза в зависимости от носительства пациентов генотипов генов *CAT* (G262A), *GPX4* (C718T), *IL28B* (C/T) и *VEGFA* (G-634C) были сформированы две шкалы баллов. По одной шкале с появлением у пациента хотя бы одной мутантной аллели риска по этим генам возрастает вероятность быстрого прогрессирования заболевания. Вторая оценочная шкала заключалась в суммировании благоприятных и неблагоприятных аллелей и генотипов у каждого больного. Для упрощения

суммирования проведено кодирование с присвоением каждому «профибротическому» аллелю риска «- 1» балл, а защитному протективному генотипу генов *CAT* (G262A), *GPX4* (C718T), *IL28B* (C/T) и *VEGFA* (G-634C) «+1» с последующим суммированием. Суммарный балл «– 2» и ниже (то есть группы с большим количеством профибротических аллелей) имели 28,5% пациентов с медленно прогрессирующим ФП и 47% лиц с быстро прогрессирующим течением заболевания.

Таким образом, в проведенном исследовании нами установлены аллели риска, ассоциированные с прогрессирующим типом течения ХГС – «профибротические» (аллель гена *CAT* +262A, гена *GPX4* +718T, аллель T гена *IL28B* и аллель -634C гена *VEGFA*) и ассоциированные с медленным прогрессированием заболевания – «протективные» (генотип гена *CAT* +262 GG, гена *GPX4* +718 CC, генотип CC гена *IL28B* и -634 GG гена *VEGFA*). Таким образом, определение генетического профиля у больных ХГС может служить дополнительным фактором при оценке риска прогрессирования течения заболевания и поражения печени.

С целью уточнения возможности использования предложенного комплеса основных лабораторных маркеров для оценки изменения фиброза после терапии препаратами интерферона мы провели сравнительное исследование на модели ХГС. Исходно и после завершения курса терапии у пациентов обеих групп оценивались следующие параметры: плотность печени по данным УЗЭ, СРФ, маркер фиброза – ГК, показатель регенерации - АФП, цитолитические ферменты АЛТ и АСТ, маркер холестаза - ГГТП, показатель ПОЛ – МДА, антиоксидантные ферменты каталаза и ГЛП, цитокины, ВЭФР и метаболические тесты. Пациенты обеих групп до начала терапии интерферонами были сопоставимы по основным исследуемым показателям.

При терапии интерфероном пролонгированного действия по схеме «Пегинтрон+рибавирин» наблюдался положительный клинический эффект. При опросе пациентов регистрировалось уменьшение жалоб на слабость с 30 до 5%,

чувства тяжести в правом подреберье с 20 до 5%. Частота выявления признаков гепатомегалии сократилась с 75 до 10%.

Антифибротический эффект при данной схеме был достигнут у 69% пациентов. Количество больных со стадией F0 увеличилось с 25 до 40%, со стадиями F3 и F4 уменьшилось с 25 до 10%, что свидетельствует о регрессии фиброза. В пользу обратного развития фиброза свидетельствовало уменьшение плотности печени с 6,8 (6,1;8,6) до 5,9 (5,3;6,7) кПа (p=0,03), СРФ с 0,31±0,26 до 0,18±0,16 балла/год (p=0,02) и снижение уровня ГК с 36,3 (22; 133,6) до 17,5 (13,4;31) нг/мл (p=0,01). После лечения у пациентов отмечено уменьшение концентрации АФП (p=0,01), ГГТП (p=0,03), МДА (p=0,01), ФНО-α (p=0,03), ИЛ-6 (p=0,01), ВЭФР (p=0,01), ТГ (p=0,03) и ЛПОНП (p=0,01). При этом, активность антиоксидантных ферментов каталазы и ГЛП значимо повысилась (p<0,001 и p<0,001, соответственно). Непосредственный вирусологический ответ был получен у 85% пациентов, устойчивый вирусологический ответ - у 75% лиц. Полученные нами данные согласуются с результатами терапии пегилированным интерфероном-альфа в комбинации с рибавирином первичных больных ХГС, приводимыми различными исследователями [2, 27, 36, 40, 52, 54, 71, 183, 225]. Положительный биохимический ответ при терапии пролонгированным интерфероном был зафиксирован у 85% больных.

После лечения отечественным короткоживущим интерфероном по схеме «Альтевир+рибавирин» наблюдался положительный клинический эффект у большинства пациентов с ХГС, частота выявления признаков гепатомегалии сократилась с 80 до 7%. Антифибротический эффект при данной схеме был достигнут у 70% больных. Количество больных со стадией F0 увеличилось с 43 до 73%, а число пациентов со стадиями F1-2 уменьшилось с 53,4 до 26,7%, что свидетельствует о регрессии фиброза. Было зафиксировано уменьшение плотности печени с 6,3 (5,0;7,1) до 5,7 (4,4;6,6) кПа (p=0,02), СРФ с 0,21±0,2 до 0,1±0,1 балла/год (p=0,02) и снижение уровня ГК с 43,9 (26,9;90,4) до 23,69 (13,8;25) нг/мл (p=0,001). Обратное развитие фиброза при лечении интерфероном короткого действия подтверждалось положительной динамикой лабораторных

маркеров фиброза: уменьшением концентрации ГГТП (p=0,002), МДА (p=0,03), ФНО-α (p=0,03), ИЛ-6 (p=0,01), ВЭФР (p=0,01), ТГ (p=0,01) и ЛПОНП (p=0,01) при повышении активности антиоксидантных ферментов каталазы и ГЛП (p<0,001 и p<0,001, соответственно). Непосредственный вирусологический ответ был получен у 93% пациентов, устойчивый вирусологический ответ - у 86,6% лиц. Полученные нами данные согласуются с результатами применения в комплексном лечении ХГС отечественных стандартных интерферонов-альфа, приводимыми различными исследователями [13, 35, 42, 86]. Положительный биохимический ответ при терапии интерфероном короткого действия был зафиксирован у 90% больных.

По мнению некоторых авторов критериями эффективности интерферонотерапии, помимо общепринятых параметров, являются уменьшение исходно высокой концентрации ФНО-α и ИЛ-6 к 6-12 месяцам терапии [41], а повышение их сывороточного содержания на 1-й неделе лечения более, чем на 30,6% и 21,1% от исходных ассоциировано с устойчивым вирусологическим ответом, что позволяет прогнозировать эффективность терапии [97].

Таким образом, этиотропная терапия ХГС пролонгированным интерфероном импортного производства по схеме «Пегинтрон+рибавирин» и отечественным интерфероном короткого действия по схеме «Альтевир+рибавирин» сопровождается снижением активности холестаза, воспаления, процессов сосудистой перестройки и пероксидации липидов при нормализации механизмов антиоксидантной защиты и метаболических показателей, что сопровождается уменьшением выраженности фиброза и скорости его развития в 69% и 70% соответственно.

Мониторинг показателей: СРФ, ГК, ГГТП, ФНО-α, ИЛ-6, ВЭФР, МДА, каталазы и ГЛП можно применять в качестве динамических критериев оценки антифибротического эффекта этиотропной терапии ХГС интерферонами короткого и пролонгированного действия.

На основании всего вышеизложенного, мы предлагаем *модель лабораторного алгоритма*, которая позволяет оценить выраженность, темпы и

генетический риск прогрессирования фиброза, прогнозировать развитие цирроза и оценить антифибротическую эффективность терапии (рис. 55).

1. *Диагностика стадии ФП:*

- определение в сыворотке крови прямого маркера фиброза ГК: отсутствие фиброза печени (F0) диагностируется при сывороточной концентрации ГК менее или равном 42 нг/мл, стадия умеренного ФП (F1-2) устанавливается при уровне ГК в более 42 нг/мл и менее или равном 70,3 нг/мл, стадия выраженного ФП (F3) - при содержании ГК более 70,3 нг/мл и менее или равном 104,3 нг/мл, стадия F4 диагностируется при уровне ГК более 104,3 нг/мл;

- расчет индекса фиброза с использованием непрямых маркеров по формуле: ИФ=3,79-0,0056×ТР+0,0855×ФНО-α-0,0352×АЛЬБУМИН. Значение индекса фиброза в интервале от 0 до 0,5 включительно свидетельствует об отсутствии фиброза (стадия F0), индекс фиброза в интервале от 0,6 до 2,5 включительно соответствует умеренной стадии фиброза (F1-2), индекс фиброза более 2,5 диагностирует выраженную стадию фиброза (F3-4);

- стадия F0 верифицируется при значении количества тромбоцитов более 282×10^9/л, альбумина более 47,3 г/л и ФНО-α менее 1,9 пг/мл. Стадия умеренного ФП (F1-2) устанавливается при количестве тромбоцитов в крови более или равном 200×10^9 /л и менее 282×10^9 /л, уровне альбумина более или равном 44,1 г/л и менее 47,3 г/л и значении ФНО-α более 1,9 пг/мл и менее или равном 2,8 пг/мл. Стадия выраженного ФП (F3-4) верифицируется при количестве тромбоцитов в крови менее 200×10^9 /л, уровне альбумина менее 44,1 г/л и значении ФНО-α более 2,8 пг/мл;

2. *Оценка темпа прогрессирования фиброза печени:*

- определение СРФ, как соотношение стадии фиброза (в баллах) к длительности заболевания (в годах);

- определение прогноза прогрессирования ФП: высокий темп прогрессирования фиброза прогнозируется при концентрации ГК в крови более 40,4 нг/мл, уровне АФП более 2,14 МЕ/мл и значении глюкозы менее 4,1 ммоль/л.

3. *Прогнозирование риска развития ЦП:*

- развитие ЦП в исходе ХГ прогнозируется при сывороточной концентрации АФП более 5,13 МЕ/мл, уровне ИЛ-6 более 4,4 пг/мл и значении Г-КСФ более 14,8 пг/мл.

4. *Определение генетического риска прогрессирования фиброза печени:*

- определение генотипов генов *CAT* (G262A), *GPX4* (C718T), *IL28B* (C/T) и *VEGFA* (G-634C) и выявление аллелей риска, ассоциированных с прогрессирующим типом течения заболевания: аллель гена *CAT* +262A, гена *GPX4* +718T, аллель T гена *IL28B* и аллель -634C гена *VEGFA*;

- определение генетического профиля по предложенным шкалам бальной оценки.

5. *Оценка антифибротического эффекта этиотропной терапии и прогноза заболевания:*

- определение СРФ;

- определение стадии ФП по уровню ГК и расчету ИФ;

- в качестве динамических критериев оценки антифибротического эффекта этиотропной терапии гепатита следует определять СРФ и динамику показателей: ГК, ГГТП, ФНО-α, ИЛ-6, ВЭФР, МДА, каталазы и ГЛП. Положительная динамика данных маркеров свидетельствует об обратном развитии фиброза.

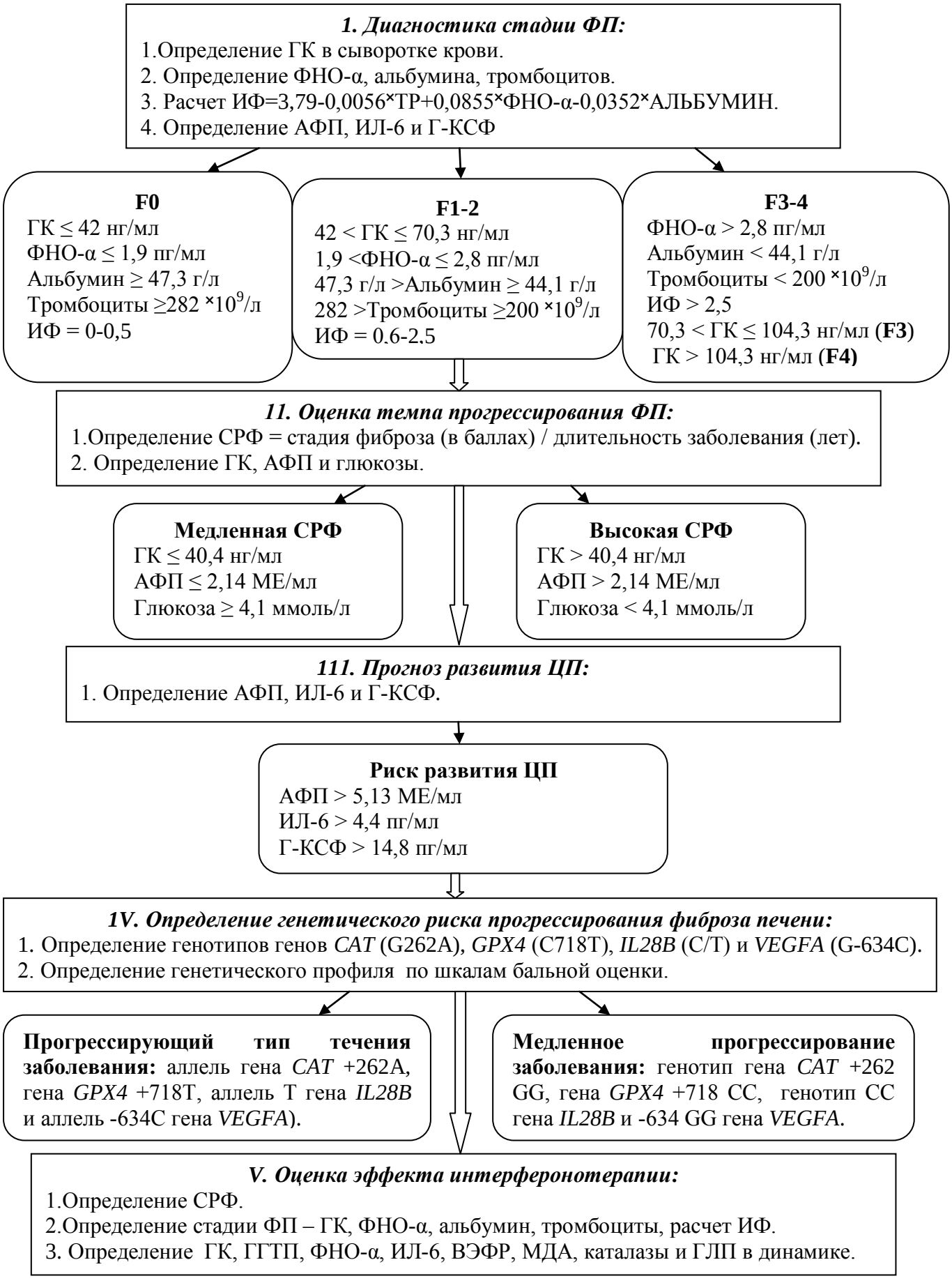

Рис. 52. Модель лабораторного алгоритма диагностики ФП.

Концепция. Фиброз печени на патогенетическом уровне подчиняется общепатологическим закономерностям хронического воспалительного процесса с активацией процессов перкисного окисления липидов, увеличением выработки провоспалительных цитокинов, нарушением обмена железа, активацией механизмов регенерации и сосудистой перестройки, метаболическими нарушениями и истощением механизмов антиоксидантной защиты. Тем не менее, механизмы воспаления и соответственно фиброгенеза в печени уже на ранних стадиях хронического гепатита у каждого пациента идут сугубо индивидуально. Генетическая характеристика макроорганизма на фоне общепатологических механизмов определяет индивидуальный прогноз в плане развития заболевания и его прогрессирования. Сформированный комплекс лабораторных диагностических тестов, отражающих механизмы формирования фиброза, позволяет определить его выраженность и темпы развития, а также прогнозировать риск развития перехода в цирроз. Терапия интерферонами приводит к уменьшению выраженности фиброза, что соответствует положительной динамики предложенного комплекса лабораторных тестов. Лабораторная панель, предложенная на основе отечественных тестов, имеет приемлемую стоимость, доступность и воспроизводимость. Наши данные мы включили в схему патогенеза фиброза при ХЗП (рис. 53).

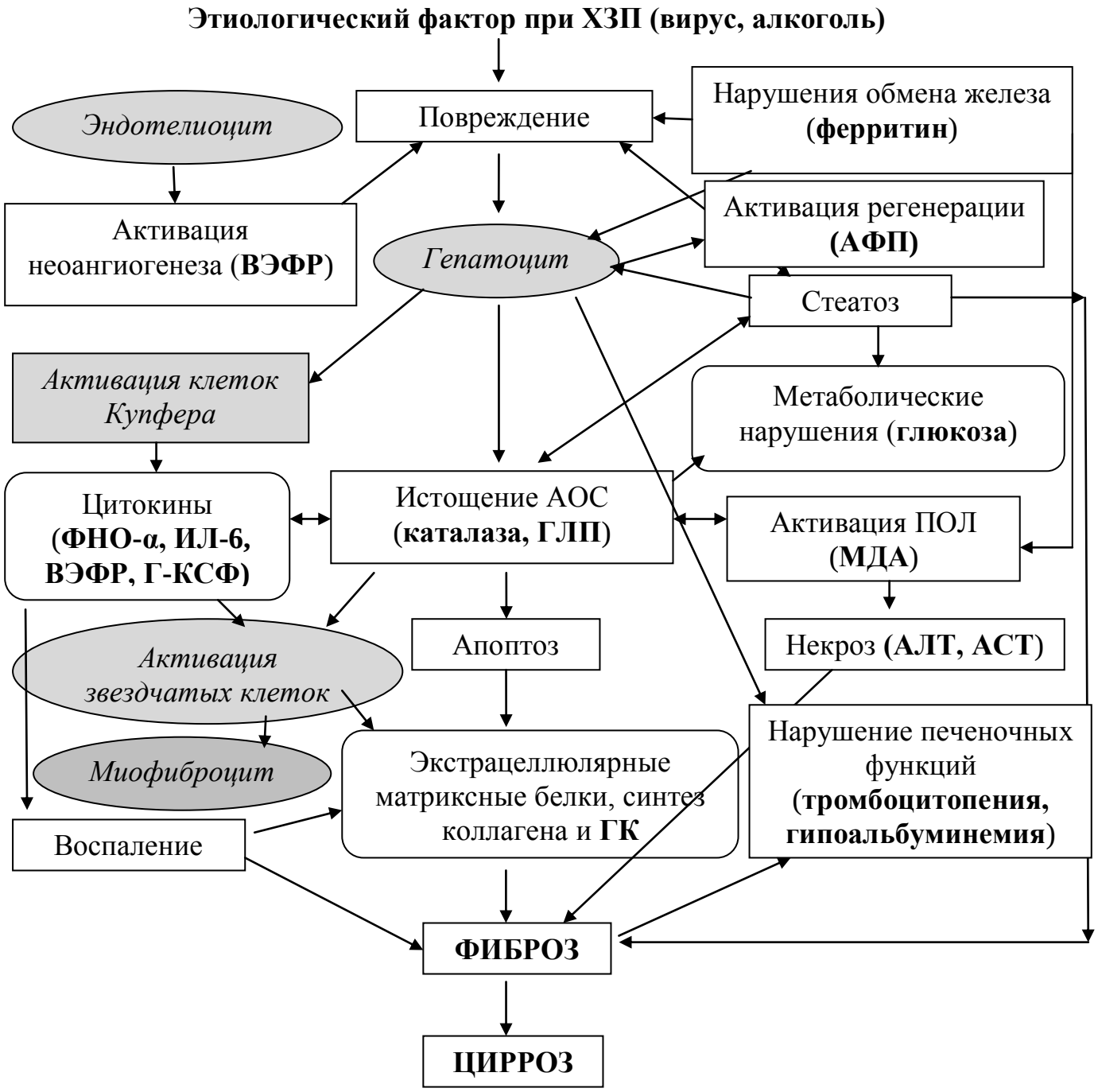

Рис. 53. Уточнение патогенеза фиброза при ХЗП на основе материалов исследования.

ВЫВОДЫ

1. Сформирован комплекс лабораторных тестов, характеризующих при хронических заболеваниях печени процессы активации перекисного окисления липидов, истощения механизмов антиоксидантной защиты, гиперпродукции провоспалительных цитокинов, нарушения обмена железа, усиления процессов регенерации и неоангиогенеза в печени, который отражает степень повреждения её ткани и маркирует выраженность фиброза.
2. У пациентов с хроническими заболеваниями печени установлены значимые ассоциации степени плотности печени по данным ультразвуковой эластографии и значениями лабораторных параметров: гиалуроновой кислоты, альфа-фетопротеина, альбумина, тромбоцитов, ферритина, фактора некроза опухоли-альфа, интерлейкина-6, васкулоэндотелиального фактора роста и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора.
3. Применение рассчитанного индекса фиброза по уровню тромбоцитов, фактора некроза опухоли-альфа и альбумина, а также использование пороговых значений гиалуроновой кислоты позволяет дифференцировать стадии фиброза от F0 до F4 при хронических заболеваниях печени.
4. Скорость развития фиброза печени ассоциирована с повышением уровней гиалуроновой кислоты и альфа-фетопротеина и снижением концентрации глюкозы.
5. Увеличение маркеров фиброза и воспаления: гиалуроновой кислоты, альфа-фетопротеина, интерлейкина-6 и гранулоцитарного колониестимулирующего фактора прогнозирует риск перехода фиброза печени в цирроз.
6. Индивидуальные особенности прогрессирования фиброза печени определяются полиморфизмом генов каталазы *CAT* (G262A), глутатион-пероксидазы *GPX4* (C718T), интерлейкина *IL28B* (C/T) и васкулоэндотелиального фактора роста *VEGFA* (G-634C). Прогрессирующий тип течения хронического гепатита С ассоциированн с

наличием аллеля гена *CAT* +262A, гена *GPX4* +718T, аллеля T гена *IL28B* и аллеля -634C гена *VEGFA* и, а медленное течение заболевания связано с генотипом гена *CAT* +262 GG, гена *GPX4* +718 CC, генотипом CC гена *IL28B* и -634 GG гена *VEGFA*.

7. Носительство аллеля C гена васкулоэндотелиального фактора роста *VEGFA* (G-634C) в виде гомозиготы CC является фактором риска хронизации гепатита С.
8. Терапия интерферонами короткого и пролонгированного действия сопровождается достоверным снижением активности холестаза, воспаления, процессов сосудистой перестройки и пероксидации липидов при нормализации механизмов антиоксидантной защиты, что сопровождается уменьшением выраженности фиброза и скорости его развития.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для комплексного обследования пациентов с хроническими заболеваниями печени применение предлагаемого диагностического лабораторного алгоритма позволяет оценить выраженность, темпы и генетический риск прогрессирования фиброза, прогнозировать развитие цирроза и оценить антифибротическую эффективность терапии.
2. Для дифференциации стадии фиброза печени оптимально использовать определение в сыворотке крови уровня гиалуроновой кислоты и расчитывать индекс фиброза с чувствительностью 93,3% и специфичностью 83%. Отсутствие фиброза печени (F0) диагностируется при сывороточной концентрации гиалуроновой кислоты менее или равном 42 нг/мл, стадия умеренного фиброза (F1-2) при уровне более 42 нг/мл и менее или равном 70,3 нг/мл, стадия выраженного фиброза (F3) - при уровне данного показателя более 70,3 нг/мл и менее или равном 104,3 нг/мл, стадия F4 – при значении ГК более 104,3 нг/мл. Значение индекса фиброза в интервале от 0 по 0,5 свидетельствует об отсутствии фиброза (стадия F0), значение индекса фиброза от 0,6 до 2,5 соответствует умеренной стадии фиброза (F1-2), индекс фиброза более 2,5 диагностирует выраженную стадию фиброза (F3-4).
3. Использование расчетных пороговых значений показателей альбумина, фактора некроза опухоли-альфа и тромбоцитов позволяет дифференцировать отсутствие фиброза от его умеренных и выраженных стадий. Стадия F0 верифицируется при значении количества тромбоцитов более 282×10^9/л, альбумина более 47,3 г/л и фактора некроза опухоли-альфа менее 1,9 пг/мл. Стадия умеренного ФП (F1-2) устанавливается при количестве тромбоцитов более или равном 200×10^9/л и менее 282×10^9/л, уровне альбумина более или равном 44,1 г/л и менее 47,3 г/л и значении фактора некроза опухоли-альфа более 1,9 пг/мл и менее или равном 2,8

пг/мл. Стадия выраженного ФП (F3-4) верифицируется при количестве тромбоцитов менее 200×10^9/л, уровне альбумина менее 44,1 г/л и значении фактора некроза опухоли-альфа более 2,8 пг/мл.

4. Уровни гиалуроновой кислоты более 40,4 нг/мл, альфа-фетопротеина более 2,14 МЕ/мл и глюкозы менее 4,1 ммоль/л свидетельствуют о в высоком темпе развития фиброза печени.
5. Риск развития цирроза печени увеличивается при значении гиалуроновой кислоты более 104,3 нг/мл, уровне альфа-фетопротеина более 5,13 МЕ/мл, концентрации интерлейкина-6 более 4,4 пг/мл и значении гранулоцитарного колониестимулирующего фактора более 14,8 пг/мл.
6. Исследование полиморфизма гена васкулоэндотелиального фактора роста *VEGFA* (G-634C) следует использовать в качестве оценки риска хронизации гепатита С.
7. Исследование однонуклеотидных полиморфизмов генов *CAT* (G262A), *GPX4* (C718T), *IL28B* (C/T) и *VEGFA* (G-634C) при ХГ позволяет определить генетический риск прогрессирования фиброза печени. Появление у пациента хотя бы одной мутантной аллели риска гена *CAT* +262A, гена *GPX4* +718T, аллеля T гена *IL28B* и аллеля -634C гена *VEGFA* возрастает вероятность более быстрого прогрессирования заболевания.
8. В качестве динамических критериев оценки антифибротического эффекта этиотропной терапии гепатита следует определять скорость развития фиброза и динамику показателей: гиалуроновой кислоты, гамма-глутамилтранспептидазы, фактора некроза опухоли-альфа, интерлейкина-6, васкулоэндотелиального фактора роста, малонового диальдегида, каталазы и глутатион-пероксидазы. Положительная динамика данных маркеров свидетельствует об обратном развитии фиброза.

Список литературы

1. Абдуллаев, С.М. Клиническое значение полиморфизма генов цитокинов и гена гемохроматоза у больных хроническим гепатитом С: автореф.дис. … канд. мед. наук: 14.00.05, 03.00.15 / Абдуллаев Санджар Мухудинович. - М., 2008.- 30 с.
2. Абдурахманов, Д.Т. Перспективы в лечении хронического гепатита С / Д.Т. Абдурахманов // Клиническая гепатология. - 2010. - № 3. - С. 3-9.
3. Абдурахманов, Д. Т. Стеатоз печени при хроническом гепатите С: механизмы развития и роль в прогрессировании поражений печени / Д. Т. Абдурахманов // Клиническая гепатология. - 2005. - № 1.- С. 25-28.
4. Антонова, Т.В. Концентрация провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ФНОα при хроническом вирусном гепатите / Т. В. Антонова, Н. А. Широнина, Н.А. Гавришева // Тезисы доклада V11 Российского съезда инфекционистов. - Н. Новгород, 2006.- С. 138.
5. Бавашева, Е.Б. Особенности синтеза цитокинов при хроническом вирусном гепатите / Е. В. Бавашева, М. Х. Турьянов, О.Н. Ватагина и др. // Материалы VI Росс. съезда врачей-инфекционистов. – СПб: 2003. – С. 22 .
6. Базарный, В.В. Диагностическое значение гранулоцитарного колониестимулирующего фактора при циррозе печени /В.В. Базарный, Н.В. Гаренских // Новости Вектор-Бест. - 2013. - № 2 (68). - С.12-14.
7. Банкова В. В. Роль малонового диальдегида в регуляции перекисного окисления липидов в норме и патологии. //Автореф. дис. . д-ра биол. наук. / Банкова В.В. - М., 1990. - 45 с.
8. Бацких, С.Н. Безинтерфероновая терапия хронического гепатита С: смена препаратов или новая парадигма лечения? /С. Н. Бацких// Российский журнал Гастроэнтерологии, Гепатологии, Колопрактологии. - 2014. - Т.24. - № 4. - С. 23.
9. Белавина, И.А. Роль альфа-фетопротеина в комплексной диагностике прогрессирующего течения хронических гепатитов В и С / И.А. Белавина,

О.П. Дуданова // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопрактологии. - 2012. - № 3. - С. 57-62.

10. Бобров, А.Н. Этиологический профиль циррозов печени с летальным исходом у стационарных больных /А.Н. Бобров, А.И. Павлов, С.В. Плюснин, И.Ю. Плюснина, А.И.Хазанов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2006. – № 2. – С. 19-24.
11. Богуш, Л. С. Особенности гемосидероза у больных диффузными заболеваниями печени / Л.С. Богуш, В.М. Бычков, Ю.И. Рогов, С.К. Клецкий, Н.Н. Омельянюк, О.В. Бурцева // Рецепт. - 2008.- № 4 (60).- С. 122-130.
12. Болезни печени и желчевыводящих путей: Руководство для врачей / Под ред. В.Т. Ивашкина. – 2-е изд. – М.: ООО «Издат. Дом «М-Вести», 2005. – 536 с.
13. Борисов, В.А. Опыт использования отечественных противовирусных средств и некоторых собственных подходов к лечению хронического гепатита С у взрослых / В.А. Борисов, Б. И. Санин, С. Е. Самсонова, Е. Н. Арутюнян, Д. Б. Голубева, О. В. Зотова, Т. А. Фомина // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2015. - № 3 (20). – С.4-10.
14. Буеверов, А.О. Стеатоз печени при хроническом гепатите С: нужно ли вносить изменения в стандартные схемы терапии? / А.О. Буеверов // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. - 2005.- № 2. - С. 31-36.
15. Буеверов, А. О. Хронический гепатит С и сочетанная патология / А. О. Буеверов, М. В. Маевская // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. - 2008. - № 6. - С. 9-17.
16. Бурневич, Э.З. Новая парадигма индивидуализированной противовирусной терапии хронического гепатита С. Боцепревир в комбинации с пегилированным интерфероном-α и рибавирином./ Э.З. Бурневич // Клиническая фармакология и терапия. - 2011. – № 4. – С. 21-32.
17. Буторова, Л.И. Распространенность неалкогольной жировой болезни печени при ожирении и ее взаимосвязь с факторами риска сердечно-сосудистых

заболеваний и сахарного диабета 2-го типа // Пособие для врачей. – М.: Форте принт, 2012. – 52 с.

18. Вавилова, Т. П. Практикум по биохимии: учебное пособие для студентов медицинских вузов/ Т. П. Вавилова, О. Л. Евстафьева, И. Г. Островская.– М.: ВЕДИ, 2010. – 128 с.
19. Вельков, В.В. Сывороточные биомаркеры фиброза печени: до свидания, биопсия? / В.В. Вельков // М.:Lomonosoff Print, 2009. - 40 с.
20. Винницкая, Е. В. Диагностическая значимость сывороточных маркеров фиброза при хронических заболеваниях печени / Е.В. Винницкая, В. Н. Дроздов, Ю. М. Юнусова, Г. Г. Варванина, Н. А. Шапошникова, А. В. Петраков, Е. В. Ткаченко, Л. Б. Лазебник // Терапевтический архив. – 2013. – № 2. – С. 27-31.
21. Вирусные гепатиты в РФ 2010: справочник / под ред. Г.Г. Онищенко, А.Б. Жебруна. – Спб.: НИИЭМ им. Пастера, 2010. – 37 с.
22. Власов, В. В. Эффективность диагностических исследований / В. В. Власов. – М.: Медицина, 1988. – 256 с.
23. Галимова, С.Ф. Новые данные о диагностике и течении фиброза печени / С.Ф. Галимова, М.Ю. Надинская, М.В. Маевская, В.Т. Ивашкин // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2001. – № 4. – С. 22–28.
24. Гейвандова, Н. И. Сывороточные фосфолипиды, показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты как дополнительные неинвазивные маркеры активности хронического вирусного гепатита С / Н.И. Гейвандова, А.В. Ягода, Д.А. Гудзовская, И.В. Косторная // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. - 2008. - № 6 (18). - С. 38-42.
25. Глушенков, Д. В. Неинвазивная диагностика фиброза печени на ранних стадиях его развития / Д. В. Глушенков, О. Н. Коновалова, Ч. С. Павлов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2008. -Т. 18.- № 5 (Приложение 32). - С. 83.

26. Глушенков, Д. В. Возможности эластометрии и фибро-теста в диагностике цирроза печени / Д.В. Глушенков, Ч. С. Павлов, М. В. Маевская, В. Т. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2008. – Т. 18.- № 1 (Приложение 31). – С. 9.
27. Гусев, Д. А. Хронический гепатит С : течение, прогноз и лечение больных в военно-медицинскихучреждениях : автореф. дис. …. докт. мед. наук: 14.00.10 / Гусев Дмитрий Александрович. - М., 2006. - 47 с.
28. Дудина, К.Р. Хроническая HBV-инфекция: молекулярно-генетические методы диагностики, оптимизирующие тактику ведения пациентов: автореф. дис. …..докт. мед. наук: 14.01.09 / Дудина Ксения Рудольфовна. - М., 2011. - 42 с.
29. Еремина, Е. Ю. Гемохроматоз в практике клинициста / Е. Ю. Еремина // Медицинский альманах. - 2015. - № 1(36). - С. 74-78.
30. Ершов, Ф. И. Интерфероны и другие цитокины при остром вирусном гепатите С / Ф.И. Ершов, М.В. Мезенцева // Цитокины и воспаление. - 2007. - Т. 6. - № 3. - С. 32-35.
31. Жданов, К.В. Сывороточное содержание а-фетопротеина у больных хроническим гепатитом С на фоне интерферонтерапии / К. В. Жданов, Д. А. Гусев В. Л. Пастушенков, А. В. Шкуро // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2004. - № 1(14). - С. 12.
32. Знойко, О.О. Возможности персонифицированного подхода к лечению гепатита С на основании разработанных генетических тестов определения полиморфизма гена ИЛ-28В / О. О. Знойко, Е. В. Пыпкина, Е. А. Климова // Лечащий врач. - 2011. - № 10. - С. 39-43.
33. Ивашкин, В. Т. Диагностика и лечение неалкогольной жировой болезни печени / В. Т. Ивашкин, О. М. Драпкина, Ю. О. Шульпекова // Российские медицинские вести. – 2009. – № 3. – С. 70-81.
34. Ивашкин, В.Т. Лечение осложнений цирроза печени: практическое руководство / В. Т. Ивашкин, М. В. Маевская. – М.: Литтерра, 2011. – 64 с.

35. Ивашкин, В. Т. Результаты открытого сравнительного рандомизированного исследования ОРИОН: оценка эффективности отечественных препаратов альтевир и фосфоглив в комбинированной терапии больных хроническим гепатитом С / В. Т. Ивашкин, М. В. Маевская, П. О. Богомолов и др. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2012. - Т .22. - № 6. – С. 27-37.
36. Ивашкин, В. Т. Рекомендации по диагностике и лечению взрослых больных гепатитом С / В. Т.Ивашкин, Н. Д. Ющук, М. В. Маевская // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2013. – № 2. – С.
37. Ивашкин, В. Т. Современные схемы лечения больных хроническим гепатитом С / В. Т. Ивашкин, М. В. Маевская, М. А. Морозова // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2012. - Т. 22.- № 1. - С. 36-44.
38. Ивашкин, В. Т. Факторы риска развития гепатоцеллюлярной карциномы / В. Т. Ивашкин, М. А. Морозова, М. В. Маевская // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2009. - Т. 19.- № 1. - С. 4-15.
39. Ивашкин, В. Т. Фиброз печени / В. Т. Ивашкин, Ч.С. Павлов. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 168 с.
40. Ивашкин, В. Т. Эффективность и безопасность первого отечественного препарата пегилированного интерферона альфа-2b «ПегАльтевир» у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С: предварительные результаты клинического исследования 111 фазы / В. Т. Ивашкин, Е. Н. Бессонова, П. О. Богомолов и др. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2014. – Т. 24.- № 1. – С. 47-55.
41. Каплина, Н. А. Изменения клинических показателей и цитокинового статуса у детей с хроническими вирусными гепатитами В и С на фоне противовирусной терапии / Н.А. Каплина, Е. А. Жукова, С. В. Романова, И. В. Маянская // Цитокины и воспаление. - 2011. - Т. 10. - № 3. - С. 130-134.

42. Ковалева, Н. Б. Отечественный препарат интерферона α-2b в терапии больных хроническим гепатитом С / Н. Б. Ковалева // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2014. - Т.24. - № 2. - С. 65-68.

43. Колесниченко, Л. С. Сдвиги концентрации глутатиона и активности ферментов его метаболизма в крови при вирусных гепатитах/ Л. С. Колесниченко, В. И. Кулинский, И. В. Малов, З. А. Леонова, Ю. А. Данилов // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2002. – № 6 (2). – С. 173-176.

44. Колотвин, А. В. Прогностическая значимость генетического полиморфизма патогена и хозяина для оценки эффективности терапии и развития фиброза печени при хроническом гепатите С : автореф. дис. …канд. биол. наук: 03.01.03 / Колотвин Андрей Васильевич. - М., 2014.- 24 с.

45. Коновалова, О. Н. Неинвазивная диагностика фиброза печени: автореф. дис. …. канд. мед. наук: 14.01.28 / Коновалова Оксана Николаевна. - М., 2009. - 24 с.

46. Коротчаева, Ю. В. Прогностическое значение определения Ил-6 в сыворотке крови и цитохрома Р450 в ткани печени у больных хроническим гепатитом С / Ю. В. Коротчаева, Л. М. Самоходская, А. И. Сперанский и др. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопрактологии. - 2008. - Т. 18. - № 2. - С. 42-47.

47. Краснова, Л.И. Встречаемость и выраженность фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом в зависимости от возраста и длительности заболевания /Л. И. Краснова, М. В. Никольская // Сборник тезисов X1X Российского конгресса «Гепатология сегодня». - 2014. – с. 26.

48. Кузин, С. Н. Полиморфизм гена интерлейкина 28-В, как параметр мониторинга системы эпидемиологического надзора за гепатитом С / С. Н. Кузин, Е. Н. Кудрявцева, М. И. Корабельникова и др. // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2015. - № 2 (20). – С. 19-25.

49. Кузнецова, А. В. Показатели обмена железа при хроническом гепатите С / А. В. Кузнецова, Е. В. Дубатолкина, Е. А. Лойфман // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2009. - № 19 (5). - С. 92.

50. Курская, А. Г. Клинико-патогенетическое значение системного воспаления в формировании неалкогольной жировой болезни печени у пациентов с метаболическим синдромом: дис….канд.мед.наук: 14.01.04 / Курская Анастасия Геннадьевна. – Тюмень, 2014. – 133 с.

51. Лазебник, Л. Б. Диагностическая значимость ультразвуковой эластометрии в оценке фиброза при хронических диффузных заболеваниях печени / Л. Б. Лазебник, Е. В. Винницкая, Н. А. Шапошников, С. Г. Хомерики, А.В. Никаноров, А.А.Терехин, Н.Н. Воробьева, Е.В. Голованова // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - 2010. - № 5. - С. 10-13.

52. Лопаткина, Т. Н. Индивидуализированная противовирусная терапия хронического гепатита С сегодня / Т. Н. Лопаткина // Приложение к журналу Клиническая фармакология и терапия. - 2011. - № 4. – С. 15-19.

53. Лопаткина, Т.Н. Роль полиморфизмов гена интерлейкина 28-В в оценке эффективности противовирусной терапии хронического гепатита С / Т. Н. Лопаткина, И. С. Кудлинский // Клиническая гепатология. — 2011.— № 2. — С. 28-38.

54. Маевская, М. В. Лечение больных хроническим гепатитом С препаратом цепэгинтерферон альфа-2b в сочетании с рибавирином / М. В. Маевская, О. О. Знойко, Е. А. Климова, С. Л. Максимов, С. Н. Кижло // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2014. - Т. 24. - № 2. - С. 53-64.

55. Маммаев, С.Н. Генетический полиморфизм вируса гепатита С и риск развития гепатоцеллюлярной карциномы / С. Н. Маммаев, А. М. Каримова // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2014. - Т. 24. - № 3. - С. 42-48.

56. Маммаев, С. Н. Показатели метаболизма железа и антиоксидантная активность сыворотки крови у больных хроническим вирусным гепатитом С / С.Н. Маммаев, Е.А. Лукина, Ч.С. Павлов // Рос. журн. гастоэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2003. – Т. 13. - № 2. – С. 32–36.

57. Мехтиев, С. Н. Современные представления о фиброзе печени и методах его коррекции / С. Н. Мехтиев, В. В. Степаненко, Е. Н. Зиновьева, О. А. Мехтиева // Фарматека. - 2014. - № 6. - С. 80-87.

58. Мехтиев, С.Н. Фиброз печени как показание для терапии у больных хроническими гепатитами / С.Н. Мехтиев, О.А. Мехтиева, М.Н. Смирнова // Эффективная фармакотерапия. Гастроэнтерология. - 2015. -№1 (2). – С. 53

59. Морозова, Т. Г. Компрессионная эластография при эндосонографии как метод ранней дифференциальной диагностики стадий фиброзного процесса печени / Т. Г. Морозова, А. В. Борсуков // Современные технологии в медицине. - 2014. - № 3 (6). – С. 79-84.

60. Мукомолов, С. Л. Современная эпидемиология гепатита С в России / С. Л. Мукомолов, И. А. Левакова, Л. Г. Сулягина, Е. В. Синайская, Д.Д. Болсун, Н. В. Иванова // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2012. – № 6. – С. 21-25.

61. Николаева, Л. И. Анализ влияния генетических факторов вируса гепатита С и полиморфизма генов инфицированных людей на развитие фиброза печени/ Л. И. Николаева, А. В. Колотвин, Л. М. Самоходская, Г. В. Сапронов и др. // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2012. - № 5. - С. 7-13.

62. Павлов, А. И. Лабораторная диагностика интоксикации алкоголем у лиц с алкогольной болезнью печени / А. И. Павлов, А. И. Хазанов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии – 2010. – № 1. – С. 44-51.

63. Павлов, Ч. С. Биопсия печени: методология и практика сегодня / Ч. С. Павлов, В. Т. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2006. – № 4. – С. 65-78.

64. Павлов, Ч. С. Возможность обратимости цирроза печени (клинические и патогенетические предпосылки) / Ч. С. Павлов, В. Б. Золоторевский, М. С. Томкевич и др. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2006. – Т. 16.- № 1. – С. 20-29.

65. Павлов, Ч. С. Динамика показателей воспаления и фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом С (ХВГ-С) на фоне комбинированной терапии (интерфероном-а + рибавирином) / Ч. С. Павлов, В. Б. Золоторевский, В. Т. Ивашкин и др. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2006. – Т. 16.- № 1 (Прил. 27). – С. 45.

66. Павлов, Ч. С. Как оценить и уменьшить риск фиброза, цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы у пациентов с хронической инфекцией вирусами гепатитов В и С / Ч. С. Павлов, В. Т. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2007. – Т. 17. - № 5. – С. 16-23.

67. Павлов, Ч. С. Принципы диагностики и подходы к терапии фиброза и цирроза печени / Ч.С. Павлов // Российский медицинский журнал. – 2007. – Т. 9.- № 1. – С. 11-15.

68. Павлов, Ч. С. Современные возможности эластометрии, фибро- и акти-теста в диагностике фиброза печени / Ч. С. Павлов, Д. В. Глушенков, В. Т. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2008. – № 4. – С. 43-52.

69. Павлов, Ч.С. Современные представления о патогенезе, диагностике и лечении фиброза печени / Ч.С. Павлов, В.Т. Ивашкин, Ю.О. Шульпекова, В.Б. Золотаревский // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2005. - Т. 15. - № 2. - С. 13–20.

70. Павлов, Ч.С. Способ оценки степени фиброза печени при хроническом вирусном гепатите. Патент №2352950 / Ч.С. Павлов, В.Т. Ивашкин, А.М. Баин, А.Н. Зоин // Заявка 25.12.2007. - Официальный бюллетень «Изобретения. Полезные модели». - 2009.

71. Павлов, Ч. С. Фиброз печени при хронических вирусных гепатитах В и С: автореф. дис. … докт. мед. наук: 04.00.05 / Павлов Чавдар Савов . – М., 2009. – 45 с.

72. Павлов, Ч. С. Эластометрия или биопсия печени: как сделать правильный выбор? / Ч. С. Павлов // Российские медицинские вести. – 2008. – Т. 12. - № 1. – С. 31-37.

73. Пинцани, М. Эволюция фиброза печени: от гепатита к циррозу / М. Пинзани // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2002. – № 5. – С. 4–10.

74. Пирогова, И. Ю. Диагностика фиброза печени у больных хроническими гепатитами В и С и ее клиническое значение: автореф. дис. ….докт. мед. наук: 14.01.04 /Пирогова Ирина Юрьевна. – М., 2012. – 49 с.

75. Пирогова, И. Ю. Скорость регресса фиброза печени после успешной противовирусной терапии при хронической HBV-и HCV-инфекции / И. Ю. Пирогова // Материалы X1X Российского конгресса «Гепатология сегодня». - 2014. – С. 30.

76. Пирогова, И. Ю. Клиническое применение эластометрии в гасроэнтерологическом центре / И. Ю. Пирогова // Сборник тезисов X1X Российского конгресса «Гепатология сегодня». - 2014. – С. 30.

77. Пирогова, И. Ю. Свидетельство о государственной регистрации компьютерной программы «Неинвазивная диагностика стадий хронической HCV- и HBV-инфекции». Патент №2011614239 / Ю.И. Пирогова, С.А. Пирогов, А.М. Трифонов // Зарегистрирована 27.05.2011.

78. Пирогова, И. Ю. Способ неинвазивной диагностики фиброза при диффузных заболеваниях печени. Патент №2422091 / Ю.И. Пирогова, С.А. Пышкин // Зарегистрирован 27.06.2011.

79. Плахтий, Л. Я. Измерение показателей интерлейкина ИЛ-1α и фактора некроза печени (ФНО-β) у больных хроническим вирусным гепатитом В / Л. Я. Плахтий, Б. С. Нагоев, Б. И. Отараева // Успехи современного естествознания. – 2010. – № 9. – С. 139-141.

80. Плахтий, Л. Я. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у больных хроническим вирусным гепатитом С / Л. Я. Плахтий, Б. С. Нагоев, Б. И. Отараева, А. К. Тадеева // Успехи современного естествознания. – 2010. – № 9. – С. 141-143.

81. Подымова, С. Д. Жировой гепатоз, неалкогольный стеатогепатит. Клинико–морфологические особенности. Прогноз. Лечение / С. Д. Подымова // Русский медицинский журнал. - 2005. - № 2.- С. 61-67.

82. Полунина, Т.Е. Неалкогольная жировая болезнь печени: эпидемиология, патогенез, диагностика, лечение / Т.Е. Полунина, И.В. Маев // Гастроэнтерология. – 2012. - №1. – С. 35-40.

83. Понежева, Ж. Б. Клинико-иммуннологические аспекты патогенеза хронического гепатита С и пути оптимизации терапии: автореф. дис. …докт. мед. наук: 14.01.09 /Понежева Жанна Бетовна. - М, 2011. - 18 с.

84. Рачковский, М.И. Оценка прогностической роли альфа-фетопротеина при циррозе печени: результаты 3-летнего наблюдения / М.И. Рачковский, Г.Э Черногорюк, Е.В. Белобородова, Э.И. Белобородова, Т.П. Калачева, А.А. Шаловай // Фундаментальные исследования. – 2013. - № 9 (2). – С. 724-728.

85. Редакционная. Эволюция представлений о фиброзе и циррозе печени. /Редакционная// Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. - 2005.- № 2. - С. 2-10.

86. Рекомендации по диагностике и лечению взрослых больных гепатитом С. [Электронный ресурс] - 2013. – Режим доступа: http://gepatit-c.ru/treatment/pdf/hcv_rek_2013.pdf

87. Рюмин, А. М. Новые возможности прогнозирования эффективности противовирусной терапии хронического гепатита С / А. М. Рюмин, О. В. Корочкина, Д. М. Собчак и др. // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2015. - № 2 (20). – С. 25-29.

88. Саркисянц, Н. К. Прогностическая значимость уровня ферритинемии у больных хроническим гепатитом С / Н. К. Саркисянц, Э. Г. Григорян //

Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2013. - Т. 23. - № 3. - С. 56-59.

89. Сафиуллина, Н. Х. Диагностическая роль коллагена IV типа и гиалуроновой кислоты в оценке степени воспаления и стадии фиброза печени у больных хроническим гепатитом С: дис….канд. мед. наук: 14.00.10 / Сафиуллина Наиля Ханифовна.– М., 2004. – 140 с.
90. Северов, М.В. Обратимость фиброза и цирроза печени при HCV-инфекции / М.В. Северов // Гепатологический форум. – 2008. - № 1. – С. 2–6.
91. Семенова, Н. А. Роль полиморфима генов APOE, HFE, SOD2 и IL6 в патогенезе хронического вирусного гепатита С: автор. дис….канд. мед. наук: 14.00.10 / Семенова Надежда Андреевна.– Томск., 2010. – 24 с.
92. Ситников, И. Г. Особенности нарушений липидного обмена и их коррекция препаратом фосфоглив при хроническом гепатите С / И. Г. Ситников, А. В. Рыжкина, М. С. Бохонов // Современные технологии в медицине. - 2009. - № 1. –С. 54-56.
93. Скворцов, В.В. Пероксидация липидов и антиоксидантная система в гепатологии / В.В. Скворцов //Гепатология. - 2003. - № 3. - С. 7-13.
94. Смирнов, О. А. Гемосидероз печени при хроническом гепатите / О. А. Смирнов, Н. М. Аничков, В. Г. Радченко // Архив патологии. - 2003. - № 1. - С. 39-42.
95. Соболевская, О. Л. Диагностическое значение показателей цитокиновой регуляции в прогнозировании эффективности противовирусной терапии при хроническом микст-гепатите В+С / О. Л. Соболевская, Е. А. Михайлова // Современные технологии в медицине. - 2011. - № 3.- С. 72-76.
96. Стальная, И. Д. Современные методы в биохимии: метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Д. Горишвили. М.: Медицина, 1977. – 66 с.
97. Стилиди, Е. И. Роль предикторов фиброза и обоснование их коррекции при хронических гепатитах разной этиологии: дис….канд.мед.наук: 14.01.28 /Стилиди Елена Игоревна. – Симферополь, 2014. – 154 с.

98. Сурков, А. Н. Сывороточные маркеры фиброзирования при хронических болезняхпечени у детей: автореф. дис. ….канд. мед. наук: 14.00.09 /Сурков Андрей Николаевич. – М., 2009. – 26 с.

99. Таратина, О. В. Значение полиморфизма генов ренин-ангиотензиновой системы в прогрессировании фиброза печени у больных хроническим гепатитом С / О. В. Таратина, Т. Н. Краснова, Л. М. Самоходская, Т. Н. Лопаткина, В. А. Ткачук, Н. А. Мухин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2014. - Т. 24. - № 2. - С. 69-77.

100. Таратина, О. В. Полиморфизм генов дисфункции эндотелия и скорость прогрессирования фиброза печени при хроническом гепатите С / О. В. Таратина, Т. Н. Краснова, Л. М. Самоходская, Т. Н. Лопаткина, В. А. Ткачук, Н. А. Мухин // Терапевтический архив. - 2014. - № 4. – С. 45-51.

101. Тихонова, Н. Ю. Новые возможности прогнозирования ответа на противовирусную терапию хронического гепатита С / Н. Ю. Тихонова, Э. З. Бурневич // Фарматека. — 2012.— № 2. — С. 32-35.

102. Труфанова, Ю. М. Возможности ультразвуковой эластографии печени у лиц с избыточной массой тела / Ю. М. Труфанова, Н. В. Топильская, С. В. Морозов, В. А. Исаков, Б. С. Каганов // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. - 2010. – № 5. - С. 19-26.

103. Хазанов, А.И. Итоги длительного изучения (1946–2005) этиологии циррозов печени у стационарных больных / А.И. Хазанов // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2006. – № 2. – С. 11–18.

104. Хазанов, А.И. Хроническая интоксикация алкоголем и заболевания печени / А.И. Хазанов, С.В. Плюснин, С.А. Белякин, А.П. Васильев, А.Н. Бобров, А.И. Павлов, С.Г. Пехташев // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2009. – № 1. – С. 43–52.

105. Хараева, З. Ф. Особенности Фно-индуцированного апоптоза у больных с парентеральными гепатитами и герпетической инфекцией / З. Ф. Хараева, М.

Р. Иванова, А. А. Шевченко // Фундаментальные исследования. - 2011. - № 7. - С. 152-154.

106. Целиковский, А. В. Влияние стеатоза печени на эффективность комбинированной противовирусной терапии хронического гепатита С [Электронный ресурс] / А. В. Целиковский, Ю. Г. Притулина, Д. С. Астапченко, В. В. Шенцова, И. В. Криворучко // Современные проблемы науки и образования. - 2012. - № 6. - Режим доступа: www.science-education.ru/106-7387.

107. Шахильдян, И. В. Гепатит С в России / И. В. Шахильдян, О. Н. Ершова, М. И. Михайлов, Л. Б. Кистенева и др. // Инфекция и иммунитет. - 2012. - № 2. – С. 1-2.

108. Шелудько, В. С. Теоретические основы медицинской статистики: метод. рекомендации / В. С. Шелудько, М. Я. Подлужная. – Пермь, 2001. – 36 с.

109. Шептулина, А. Ф. Неинвазивная диагностика фиброза печени: роль сывороточных маркеров / А. Ф. Шептулина, Е. Н. Широкова, В. Т. Ивашкин // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2015. - № 2. - С. 28-40.

110. Широких, И. Н. Маркеры фиброза печени при хронических гепатитах: их диагностическая и прогностическая значимость: дис. ...канд. мед. наук: 14.01.04 /Широких Илья Николаевич. – Пермь, 2014. – 164 с.

111. Широнина, Н.Л. Клинико-патогенетическое значение фактора некроза опухоли-α, интерлейкина-6 и трансформирующего фактора роста-β1 при хроническом гепатите С: дис. ...канд.мед.наук: 14.00.10, 14.00.16 / Широнина Наталья Леонидовна. – Спб, 2008. – 16 с.

112. Шкуро, А. В. Прогностическое значение определения онкологических маркеров при вирусном гепатите С: автореф. дис. …. канд. мед. наук: 14.00.46, 14.00.10 /Шкуро Андрей Владимирович. - Спб., 2004.- 24 с.

113. Щёкотов, В. В. Взаимосвязь маркеров эндотелиальной дисфункции и фиброза при хроническом гепатите и циррозе печени / В. В. Щекотов, А. П. Щекотова, И. А. Булатова // Клиницист. – 2011. – № 3. – С. 68-73.

114. Щёкотов, В.В. Способ дифференциальной диагностики хронического вирусного гепатита и цирроза печени: патент 2383021 Рос. Федерация / В.В. Щёкотов, А.П. Щёкотова, И.А. Булатова, И.Н. Мугатаров. // Официальный бюллетень «Изобретения. Полезные модели». – 2010. - № 6. – С.4

115. Щёкотов, В.В. Способ дифференциальной диагностики хронического вирусного гепатита и цирроза печени: патент 2383024 Рос. Федерация / В.В. Щёкотов, А.П. Щёкотова, И.А. Булатова, И.Н.Мугатаров. // Официальный бюллетень «Изобретения. Полезные модели». – 2010. - № 6. – С. 3.

116. Щёкотова, А. П. Диагностическая эффективность лабораторных тестов определения функционального состояния эндотелия у больных с хроническими диффузными заболеваниями печени / А. П. Щекотова, В. В. Щекотов, И. А. Булатова, А. П. Ройтман // Клиническая лабораторная диагностика. – 2009. – № 10. – С. 24-28.

117. Щёкотова, А. П. ДЭЦ – тест дифференциальной диагностики хронического гепатита и цирроза печени [Электронный ресурс] / А. П. Щёкотова // Здоровье семьи - 21 век. – 2012. - № 1. - Режим доступа : (электронный журнал).

118. Щёкотова, А.П. Фактор Виллебранда – возможный тест дифференциальной диагностики хронического гепатита и цирроза печени / А.П. Щёкотова, И.А. Булатова, И.Н. Мугатаров // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2012. - № 3. – С. 39-41.

119. Щёкотова, А. П. Эндотелин-1 – эффективный тест дифференциальной диагностики хронического гепатита и цирроза печени/ А. П. Щекотова // Пермский медицинский журнал. - 2012. -№ 29. - С. 55-59.

120. Щёкотова, А. П. Эндотелиальная дисфункция, воспаление и фиброз при гепатобилиарной патологии/ А. П. Щёкотова, Л. П. Котельникова, И. Н. Мугатаров, Н. Н. Федачук // Фундаментальные исследования. - 2013. – № 5 (часть 2). – С. 451-455.

121. Щёкотова, А. П. Эффективность исследования васкулоэндотелиального фактора роста для дифференциальной диагностики хронического гепатита и

цирроза печени / А. П. Щёкотова // Материалы научной сессии ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера. - 2012 г. - С. 77-80.

122. Щёкотова, А. П. Чувствительность и специфичность определения гиалуроновой кислоты, коэффициента де Ритиса и ВЭФР для диагностики ХГ и ЦП / А. П. Щёкотова, И. А. Булатова, А. П. Ройтман // Пермский медицинский журнал. – 2013. - № 4. – Т. 30. – С. 84-89.

123. Щёкотова, А. П. NO – тест дифференциальной диагностики хронического гепатита и цирроза печени / А. П. Щёкотова, И. А. Булатова, И. Н. Мугатаров // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2012. - № 3. – С. 41-44.

124. Ющук, Н. Д. Социально-экономическое бремя гепатита С : методология оценки и трудности расчета в РФ / Н. Д. Ющук, О. О. Знойко, К. Р. Дудина, С. А. Шутько, Н. Х. Сафиуллина и др. // Медицинские технологии. Оценка и выбор. - 2012. - № 4. - С. 46-51.

125. Ющук, Н.Д. Протокол диагностики и лечения больных вирусными гепатитами В и С / Н.Д. Ющук, Е.А. Климова, О.О. Знойко, Г.Н. Кареткина, С.Л. Максимов // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2010. – № 6. – С. 4–60.

126. Ягмур, В. Б. Динамика показателей фиброза у больных циррозом печени при лечении с применением препарата урсосана / В. Б. Ягмур, С. С. Ягмур, В. Е. Кудрявцева и др. // Ліки України. — 2012. — № 7 (163). — С. 52-54.

127. Яковенко, А.В. Цирроз печени. Вопросы терапии /А.В. Яковенко, Э.П. Яковенко // Consilium medicum. – 2006. – Т. 8. - № 7. – С. 1-8.

128. Якушечкина, Н. А. Фармакоэкономическое обоснование применения телапревира в комбинированной противовирусной терапии у больных хроническим гепатитом С с выраженным фиброзом [Электронный ресурс] / Н. А. Якушечкина, Н. Д. Ющук, О. О. Знойко, К. Р. Дудина, Н. Х. Сафиуллина, П. А. Белый, Е. А. Луговских // Лечащий врач. - 2013. - Режим доступа: http://www.lvrach.ru/2013/05/15435713.

129. Abbas, Z. Effect of cytokine gene polymorphism on histological activity index, viral load and response to treatment in patients with chronic hepatitis C genotype 3./ Z. Abbas, T. Moatter, A. Hussainy, W. Jafri //World J. Gastroenterol. - 2005. - V. 11. - №. 42. - P. 6656-6661.

130. Abbas, Z . Interleukin (IL) 1beta and IL-10 gene polymorphism in chronic hepatitis C patients with normal or elevated alanine aminotransferase levels/ Z. Abbas, T. Moatter // The Journal of the Pakistan Medical Association. - 2003. - V. 53. - № 2. - P. 59-62.

131. Adams, L. A. Hepascore: an accurate validated predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection / L. A. Adams, M. Bulsara, E. Rossi et al. // Clin. Chem. - 2005. - № 51. - P. 1867-1873.

132. Adams, P. C. Hemochromatosis and ironoverload screening in a racially diverse population / P. C. Adams, D. M. Reboussin, J. C. Barton et al. // N. Engl. J.Med. - 2005. - V. 352. - P. 1769-1778.

133. Ahmad, A. Understanding the mechanism of hepatic fibrosis and potential therapeutic approaches / A. Ahmad, R. Ahmad // Saudi J. Gastroenterol. - 2012. - №18. - P. 155-167.

134. Albeldawi, M. Hepatitis C virus: Prevention, screening, and interpretation of assays / M. Albeldawi, E. Ruiz-Rodriguez, W. D. Carey // Cleve Clin. J. Med. – 2010. – V. 77. – № 9. – P. 616-626.

135. Aripkhodjaeva, Gulnozakhon Z. The State of the Antioxidant System in Chronic Hepatitis C/ Gulnozakhon Z. Aripkhodjaeva // International Journal of BioMedicine. - 2014. - № 4 (2). - P. 79.

136. Assenat, E. Arginase 1: a potential marker of a common pattern of liver steatosis in HCV and NAFLD children/ E. Assenat, L. Akkari, M. Moreau, U. Hibner // J. Hepatol. - 2015. - V. 62. - № 5. - P. 1208-1209.

137. Balter1, S. Estimating the prevalence of hepatitis C infection in New York City using surveillance data/ S. Balter, J. H. Stark, J. Kennedy, K. Bornschlegel , K. Konty // Epidemiol. Infect. - 2014. - № 142. - P. 262-269.

138. Baranova, A. Non-invasive markers for hepatic fibrosis / A. Baranova, P. Lal, A. Birerdinc, Z.M. Younossi // BMC Gastroenterol. – 2011. – V.11. – P. 91.

139. Barnard, R. J. Analysis of boceprevir resistance associated amino acid variants (RAVs) in two phase 3 boceprevir clinical studies / R. J. Barnard, J. A. Howe, R. A. Ogert et al. // Virology. - 2013. - № 444 (1-2). - P. 329-336.

140. Barrett, S. Polymorphisms in tumour necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta, interleukin-10, interleukin-6, interferon-gamma, and outcome of hepatitis C virus infection / S. Barrett, M. Collins, C. Kenny et al. // J. Med. Virol. - 2003. - № 71.- P. 212-218.

141. Barritt A., Sidney. Maximizing Opportunities and Avoiding Mistakes in Triple Therapy for Hepatitis C Virus/ Sidney Barritt A., Michael W. Fried // Gastroenterology. - 2012. – V. 142. - № 6. - P. 1314-1323.

142. Bartenschlager, R. The molecular and structural basis of advanced antiviral therapy for hepatitis C virus infection / R. Bartenschlager, V. Lohmann, F. Penin // Nat. Rev. Microbiol. - 2013. - № 11. - P. 482-496.

143. Bassendine, M. F. Lipids and HCV / M. F. Bassendine, D. A. Sheridan, S. H. Bridge, D. J. Felmlee, R. D. Neely // Semin. Immunopathol. - 2013. - № 35. – P. 87-100.

144. Bataller, R. Liver fibrosis / R. Bataller, D.A. Brenner // J. Clin. Invest. - 2005. - V. 115. - № 2. - P. 209–218.

145. Bataller, R. NADPH oxidase signal transduces angiotensin II in hepatic stellate cells and is critical in hepatic fibrosis / R. Bataller, R. F. Schwabe, Y. H. Choi, L. Yang, Y. H. Paik, J. Lindquist, T. Qian, R. Schoonhoven, C. H. Hagedorn, J. J. Lemasters, D. A. Brenner // J. Clin. Invest. - 2003. - V. 112. - P. 1383-1394.

146. Başar, O. Non-invasive tests in prediction of liver fibrosis in chronic hepatitis B and comparison with post-antiviral treatment results / O. Başar, B. Yimaz, F. Ekiz et al. //Clin. Res Hepatol. Gastroenterol. - 2013. - № 37 (2). - P. 152-158.

147. Bavu, E. Noninvasive in vivo liver fibrosis evaluation using supersonic shear imaging: a clinical study on 113 hepatitis C virus patients / E. Bavu, J. L. Gennisson, M. Couade, J. Bercoff, V. Mallet, M. Fink, A. Badel, A. Vallet-

Pichard, B. Nalpas, M . Tanter, S. Pol // Ultrasound Med. Biol. – 2011. – V. 37. – № 9. – P. 1361-1373.

148. Bedossa, P. Liver biopsy: the best, not the gold standard/ P. Bedossa, F. Carrat // J. Hepatol. - 2009. - №50. - P. 1-3.

149. Bedossa, P. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis/ P. Bedossa, D. Dargere, V. Paradis // C. Hepatology. - 2003.- № 38. - P. 1449-1457.

150. Bedossa, P. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C/ P. Bedossa, T. Poynard // The Metavir Cooperative Study Group. Hepatology. - 1996. - № 24 (2). - P. 289-293.

151. Berzigottia, A. Noninvasive diagnostic and prognostic evaluation of liver cirrhosis and portal hypertension / A. Berzigottia, E. Ashkenazia, E. Revertera et al. // Dis. Markers. - 2011. - № 31 (3). - P. 129-138.

152. Bogdan, P. Real-time shear-wave elastography: Applicability, reliability and accuracy for clinically significant portal hypertension / Bogdan Procopet, Annalisa Berzigotti, Juan G. Abraldes, Fanny Turon, Virginia Hernandez-Gea, Juan Carlos Garcia-Pagan, Jaime Bosch // Journal of Hepatology.- 2015. - № 62. - V. 5. - P. 1068-1075.

153. Booth David, R. Pharmacogenomics of hepatitis C infections: personalizing therapy [Electronic resonrce] / David R. Booth, Golo Ahlenstiel and Jacob George // Genome Medicine. - 2012. - № 4. - P. 99. - Available from: http://genomemedicine.com/content/4/12/99.

154. Bosetti, C. Worldwide mortality from cirrhosis: An update to 2002 / F. Levi, F. Lucchini et al. // Journal of Hepatology. 2007. – V. 46. - № 5. – P. 827-839.

155. Bossuyt, P. M. The Stard statement for reporting studies of diagnostic accurary: explanation and elaboration/ P. M. Bossuyt, J. B. Reitsma, D. E. Bruns, C. A. Gatsonis, P. P. Glasziou, L. M. Irwig // Clin. Chem. - 2003. - № 49. - P. 7-18.

156. Bota, S. Meta-analysis: Arfi elastography versus transient elastography for the evaluation of liver fibrosis / S. Bota, H. Herkner, I. Sporea, P. Salzl, R. Sirli, A.M. Neghina, M. Peck-Radosavljevic // Liver Int. – 2013. – V. 33. – № 8. – P. 1138-1147.

157. Boursier, J. An extension of STARD statements for reporting diagnostic accuracy studies on liver fibrosis tests: The Liver-FibroSTARD standarts / J. Boursier, V. Ledinghen, T. Poynard, L. Guechot, F. Carrat, V. Leroy, G. Wong, M. Friedrich-Rust, M. Fraguelli, M. Plebani, G. Sebastiani, R. Myers, P. Angulo, S.Bertrais, D. Wendum, I. Bricault, P. Cales // J. of Hepatology. - 2015. - № 62. - P. 807-815.

158. Boursier, J. Improved diagnostic accuracy of blood tests for severe fibrosis and cirrhosis in chronic hepatitis C / J. Boursier, Y. Bacq, P. Halfon, V. Leroy, V. Ledinghen, A. Muret, M. Bourliere, N. Sturm, J. Foucher, F. Oberti, M.C. Rousselet, P. Cales // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. – 2009. – V. 21. – № 1. – P. 28-38.

159. Boya, P. Antioxidant status and glutathione metabolism in peripheral blood mononuclear cells from patients with chronic hepatitis C / P. Boya, A. Peca, O. Beloqui et al. // J. Hepatol. – 1999. –V. 31. - № 5. – P. 808-814.

160. Bressler, B. L. High body mass index is an independent risk factor for nonresponse to antiviral treatment in chronic hepatitis C / B.L. Bressler, M. Guindi, G. Tomlinson, J. Heathcote // Hepatology. 2003. - № 38. - P. 639–644.

161. Bridge, S. H. Insulin resistance and low-density apolipoprotein B-associated lipoviral particles in hepatitis C virus genotype 1 infection / S. H. Bridge, D. A. Sheridan, D. J. Felmlee, S. U. Nielsen, H. C. Thomas, S. D. Taylor-Robinson // Gut. - 2011. - № 60. - P. 680-687.

162. Bridge, S. H. PCSK9, apolipoprotein E and lipoviral particles in chronic hepatitis C genotype 3: Evidence for genotype-specific regulation of lipoprotein metabolism/ S. H. Bridge, D. A. Sheridan, D. J. Felmlee, M. E. Crossey, F. I. Fenwick, C. V. Lanyon, G. Dubuc, N. G. Seidah, J. Davignon, H. C. Thomas, S. D. Taylor-Robinson, G. L. Toms // J. Hepatol. - 2015. - № 62. - P. 763-770.

163. Brooks, J. Therapeutic advances in the management of chronic hepatitis B infection / J. Brooks, W. Gelson, S. M. Rushbrook // Ther. Adv. Chronic. Dis. – 2013. – № 4. – P. 157-166.

164. Cai, T. Viral genotype-specific role of PNPLA3, PPARG, MTTP, and IL28B in hepatitis C virus-associated steatosis / T. Cai, J. F. Dufour, B. Muellhaupt, T. Gerlach, N. Heim, D. Moradpour // J. Hepatol. - 2011. - № 55. – P. 529-535.

165. Calvaruso, V. Fibrosis evaluation by transient elastography in patients with long-term sustained HCV clearance [Electronic resonrce] / V. Calvaruso, V. Di Marco, D. Ferraro, S. Petta, A. Calì, M. Grazia Bavetta, E. Conte, P. Luigi Almasio // Национальный центр биотехнологической информации США. - 2013. - Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=23967020%5Buid%5D.

166. Cariani, E. Translating pharmacogenetics into clinical practice: interleukin (IL) 28B and inosine triphosphatase (ITPA) polymophisms in hepatitis C virus (HCV) infection / E. Cariani, E. Villa, C. Rota et al. // Clinical chemistry and laboratory medicine: FESCC. - 2011. - V. 49. - № 8. - P. 1247-1256.

167. Caroline, J. Sands. Metabolic Phenotyping for Enhanced Mechanistic Stratification of Chronic Hepatitis C-Induced Liver Fibrosis / Caroline J Sands, Indra Neil Guha, Michael Kyriakides // The American Journal of Gastroenterology. -2014. - № 10. - P. 370. 12/2014; DOI: 10.1038/ajg.2014.370.

168. Cassinotto, C. Non-invasive assessment of liver fibrosis with impulse elastography: comparison of Supersonic Shear Imaging with ARFI and FibroScan / C. Cassinotto, B. Lapuyade, A. Mouries, J. Hiriart, J. Vergniol, D. Gaye et al. // J. Hepatol. - 2014. - № 61. - P. 550-557.

169. Castera, L. Hepatitis B: are non-invasive markers of liver fibrosis reliable? / L. Castera // Liver Int. - 2014. - № 3. - P. 91-96.

170. Castera, L. Invasive and non-invasive methods for the assessment of fibrosis and disease progression in chronic liver disease/ L. Castera // Best Pract Res Clin. Gastroenterol. - 2011. - № 25 (2). - P. 291-303.

171. Castera, L. Non-invasive assessment of liver fibrosis: are we ready? / L. Castera, M. Pinzani // Lancet. - 2010. - № 375 (9724). - P. 1419-1420.

172. Castera, L. Worsening of steatosis is an independent factor of fibrosis progression in untreated patients with chronic hepatitis C and paired liver biopsies/ L. Castera,

C. Hezode, F. Roudot-Thoraval, A. Bastie, E. S. Zafrani, J. M. Pawlotsky et al. // Gut. - 2003. - № 52.- P. 288-292.

173. Catanzaro, R. Diagnostic accuracy of enhanced liver fibrosis test to assess liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C / R. Catanzaro, M. Milazzo, S. Arona, C. Sapienza, D. Vasta, D. Arcoria, F. Marotta // Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int. – 2013. – V. 12. – № 5. – P. 500-507.

174. Chen, J. Down-regulation of PD-1 expression on lymphocytes in chronic hepatitis B patients with pegylated interferon α-2b treatment and the correlation with cytokines / J. Chen et al. // J. Hepatol. – 2010. - V. 52. - № 1. - P. 239-240.

175. Chen, C. H. Clinical significance of elevated alpha-fetoprotein (AFP) in chronic hepatitis C without hepatocellular carcinoma / C. H. Chen, S. T. Lin, C. L. Kuo, C. K. Nien // Hepatogastroenterology. – 2008. – V. 55. - № 85. – P. 1423-1427.

176. Choi, J. Mechanisms of liver injury. III. Oxidative stress in the pathogenesis of hepatitis C virus / J. Choiand, J.H. Ou // Am J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol. - 2006. – V. 290. - P. 847-857.

177. Chon, Y. E. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B: a meta-analysis [Electronic resonrce] / Y. E. Chon, E. H. Choi, K. J. Song, J. Y. Park, Y. Kim do, K. H. Han, C. Y. Chon, S. H. Ahn, S. U. Kim // Национальный центр биотехнологической информации США.-2013. - Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=23049764.

178. Chou, R. Blood tests to diagnose fibrosis or cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection: a systematic review/ R. Chou, N. Wasson // Ann. Intern. Med. - 2013. - №158. - P. 807-851.

179. Chu, C.W. Clinical, virological and pathologic significance of elevated serum alpha-fetoprotein levels in patients with chronic hepatitis C / C.-W. Chu, S.-J. Hwang, J.-C. Luo et al. // J. Clin. Gastroenterol. – 2001. – V. 32. – P. 240-244.

180. Chung, J. H. The usefulness of transient elastography, acoustic-radiation-force impulse elastography, and real-time elastography for the evaluation of liver fibrosis / J. H. Chung, H. S. Ahn, S. G. Kim, Y. N. Lee, Y. S. Kim, S. W. Jeong, J. Y.

Jang, S. H. Lee, H. S. Kim, B. S. Kim // Clin. Mol. Hepatol. – 2013. – V. 19. – № 2. – P. 156-164.

181. Clark, P. The Association of Genetic Variants with Hepatic Steatosis inPatients with Genotype 1 Chronic Hepatitis C Infection/ P. Clark, J. Alexander Thompson, Zhu Qianqian // Dig. Dis. Sci. - 2012. –August. - № 57 (8). –P. 2213.): 2213–2221. doi:10.1007/s10620-012-2171-y.

182. Couter, J. Le. Angiogenesis-independent endothelial protection of liver: role of VEGF / J. Le. Couter, D. R. Moritz, G. L. Phillips et al. // Science. – 2003. - № 299. – P. 890-893.

183. Craxì, A. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection / A. Craxì et al. // J. Hepatol. – 2011. – V. 55. – P. 245-264.

184. Crisan, D. Two or more synchronous combination of noninvasive tests to increase accuracy of liver fibrosis assessement in chronic hepatitis C / D. Crisan, C. Radu, M. Lupsor, Z. Sparchez, M. D. Grigorescu, M. Grigorescu // Hepat. Mon. – 2012. – V. 12. – № 3. – P. 177-184.

185. Daniela, Adriana Ion. Inflammatory patterns in patients with chronic hepatitis C [Electronic resonrce] /Adriana Ion Daniela, Mihaela Radulescu, Victoria Aramă et al. // BMC Infectious Diseases. 12/2013; 13(suppl 1). Available from: DOI: 10.1186/1471-2334-13-S1-O32

186. De Molo, C. ARFI elastography in patients with chronic autoimmune liver diseases: A preliminary study/ C. De Molo et al. // J. Ultrasound. - 2012. - №15 (4). - P. 226-231.

187. Deltenre, P. Studies on the epidemiology of hepatitis B and C virus infections are still needed/ P. Deltenre // J. of Hepatology. - 2015. – № 62. – P. 1225-1227.

188. Deuffic-Burban, S. Predicted effects of treatment for HCV infection vary among European countries/ S. Deuffic-Burban, P. Deltenre, M. Buti et al. // Gastroenterology. - 2012. - № 143. – P. 974-985.

189. Donato, F. A meta-analysis of epidemiological studies on the combined effect of hepatitis B and C virus infections in causing hepatocellular carcinoma / F. Donato, P. Boffetta, M. Puoti // Int. J. Cancer. – 1998. – V.74. – № 3. – P. 347-354.

190. Dowman, J. K. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease / J. K. Dowman, J.W. Tomlinson, P. N. Newsome // Q. J. Med. - 2010. - № 103. - P. 71-83.

191. Du, Wen-Jun. Expression of Interleukin-17 associated with disease progression and liver fibrosis with hepatitis B virus infection: IL-17 in HBV infection [Electronic resonrce] / Wen-Jun Du, Jun-Hui Zhen, Zhao-Qing Zeng, Zhao-Min Zheng, Yan Xu, Lai-Ying Qin, Shi-Jun Chen // Diagnostic Pathology. – 2013. – Available from: doi:10.1186/1746-1596-8-40

192. EASL Clinical practice guidelines: Management of hepatitis C virus infection. European association for the study of the liver // J. Hepatol. - 2011. - V. 55. - P. 245.

193. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C, 2014.

194. Ellis, E. L. Clinical evidence for the regression of liver fibrosis / E. L. Ellis, D. A. Mann // J. Hepatol. - 2012. - V. 56. - № 5. - P. 1171-1180.

195. El-Serag, H. B. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma / H. B. El-Serag // Gastroenterology. - 2012. - V. 142. - № 6. - P. 1264-1273.

196. El-Serag, Hashem B. A New Laboratory-Based Algorithm to Predict Development of Hepatocellular Carcinoma in Patients With Hepatitis C and Cirrhosis/ Hashem B. El-Serag, Fasiha Kanwal, Jessica A. Davila, Jennifer Kramer, Peter Richardson// Gastroenterology.- 2014. -V. 146. - № 5. - P. 1249-1255.

197. Estep, J. M. Serum cytokines and the expression of miRNAs in the visceral adipose of patients with nonalcoholic fatty liver disease / J.M. Estep et al. // J. Hepatol. - 2010. - V. 52. - № 1. - P.36.

198. Esterbauer, H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes / R.I. Scbaur, H. Zollner // Free Radio Biol Med. – 1991. – V. 11. – P. 81-128.

199. Fallowfield, J. Pathogenesis and treatment of hepatic fibrosis: is cirrhosis reversible? / J. Fallowfield, P. Hayes // Clin. Med. - 2011. - V. 11.- № 2. - P. 179-183.

200. Farci, P. Profibrogenic chemokines and viral evolution predict rapid progression of hepatitis C to cirrhosis / P. Farci et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2012. - V. 109. - P. 14562-14567.

201. Fartoux, L. Impact of steatosis on progression of fibrosis in patients with mild hepatitis C/ L. Fartoux, O. Chazouilleres, D. Wendum, R. Poupon, L. Serfaty // Hepatology. - 2005. - № 41. - P. 82-87.

202. Fattovich , G. IL 28B polymorphisms, IP-10 and viral load predict virological response to therapy in chronic hepatitis C / G. Fattovich, L. Covolo, S. Bibert et al. // Aliment. Pharmacol. Ther. - 2011. - V. 33. - № 10. - P. 1162-1172.

203. Felmlee, D. J. Hepatitis C virus, cholesterol and lipoproteins – impact for the viral life cycle and pathogenesis of liver disease/ D. J. Felmlee, M. L. Hafirassou, M. Lefevre, T. F.Baumert, C. Schuster // Viruses. - 2013. - № 5. - P. 1292-1324.

204. Ferard, G. Intermethod calibration of alanine aminotransferase (ALT) and gammaglutamyltransferase (GGT) results: application to FibroTest and ActiTest scores / G. Ferard, A. Piton, D. Messous et al. // Clin. Chem. Lab. Med. — 2006. — V. 44. — P. 400-406.

205. Ferenci, P. STARTVerso1: A randomized trial of faldaprevir plus pegylated interferon/ribavirin for chronic HCV genotype-1 infection/ P. Ferenci, T. Asselah, G. R. Foster et al. // J. of Hepatology. - 2015. -V. 62. - P. 1256-1265.

206. Ferraioli, G. Performance of real-time strain elastography, transient elastography, and aspartate-to-platelet ratio index in the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C / G. Ferraioli, C. Tinelli, A. Malfitano, B. Dal Bello, G. Filice, C. Filice, Liver Fibrosis Study Group, E. Above, G. Barbarini, E. Brunetti, W. Calderon, M. Di Gregorio, R. Lissandrin, S. Ludovisi, L. Maiocchi, G. Michelone, M. Mondelli, S.F. Patruno, A. Perretti, G. Poma, P. Sacchi, M. Zaramella, M . Zicchetti // AJR. Am. J. Roentgenol. – 2012. – V. 199. – № 1. – P. 19-25.

207. Ferrara, F. Serum ferritin as a predictor of treatment outcome in patients with chronic hepatitis / F. Ferrara, P. Ventura, A. Vegetti et al. // Am. J. Gastroenterol. – 2009. – V. 104 (3). – P. 605-616.

208. Fierbinteanu-Braticevici, Carmen. Role of oxidative stress in the pathogenesis of chronic hepatitis C (CHC) / Carmen Fierbinteanu-Braticevici, Maria Mohora, D. Cretoiu, Sanda Cretoiu, Ana Petrisor, R. Usvat, Daniela Adriana Ion. // Romanian Journal of Morphology and Embryology. - 2009. - № 50 (3). - P. 407-412.

209. Fitzpatrick, E. Noninvasive biomarkers in non-alcoholic fatty liver disease: Current status and a glimpse of the future / E. Fitzpatrick, A. Dhawan // World J. Gastroenterol. - 2014. - № 20 (31). - P. 10851-10863.

210. Floreania, A. Performance and utility of transient elastography and noninvasive markers of liver fibrosis in primary biliary cirrhosis / A. Floreania, N. Cazzagona, D. Martinesa et al. // Dig. Liver Dis. - 2011. -№ 43 (11). - P. 887-892.

211. Forns, X. Simeprevir (TMC435) with peg-interferon a-2a/ribavirin for treatment of chronic HCV genotype 1 infection in patients who relapsed after previous interferon-based therapy: efficacy and safety in patient sub-populations in the PROMISE phase III trial / X. Forns, E. Lawitz , S. Zeuzem et al. // Hepatology. - 2013. - № 58. - P. 737-738.

212. Foucher, J. Prevalence and factors associated with failure of liver stiffness measurement using FibroScan in a prospective study of 2114 examinations / J. Foucher, L. Castera, P.H. Bernard et al. // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. — 2006. — № 18. — P. 411-412.

213. Friedman, S. L. Hepatic fibrosis 2006: report of the third AASLD Single Topic Conference / S. L. Friedman, D. C. Rockey, D. M. Bissell // Hepatology. — 2007. — № 45. — P. 242-249.

214. Friedman, S. L. Liver fibrosis in 2012: Convergent pathways that cause hepatic fibrosis in NASH / S. L. Friedman // Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology. - 2013. – V. 10. - P. 71-72.

215. Friedman, S. L. Mechanisms of disease: mechanisms of hepatic fibrosis and therapeutic implications / S. L. Friedman // Nat. Clin. Prac. Gastroenterol. Hepatol. - 2004. - № 1. - P. 98-105.

216. Friedrich-Rust, M. Acoustic radiation force impulse imaging for non-invasive assessment of liver fibrosis in chronic hepatitis B / M. Friedrich-Rust, P. Buggisch,

R.J. de Knegt, V. Dries, Y. Shi, K. Matschenz, M.D. Schneider, E. Herrmann, J. Petersen, F. Schulze, S. Zeuzem, C. Sarrazin // J. Viral Hepat. – 2013. – V. 20. – № 4. – P. 240-247.

217. Friedrich-Rust, M. Acoustic radiation force impulse-imaging and transient elastography for non-invasive assessment of liver fibrosis and steatosis in NAFLD / M. Friedrich-Rust, D. Romen, J. Vermehren, S. Kriener, D. Sadet, E . Herrmann, S. Zeuzem, J. Bojunga // Eur. J. Radiol. – 2012. – V. 81. – № 3. – P. 325-331.

218. Friedrich-Rust, M. Comparison of ELF, FibroTest and FibroScan for the non-invasive assessment of liver fibrosis / M. Friedrich-Rust, W. Rosenberg, J. Parkes, E. Herrmann, S. Zeuzem, C. Sarrazin // BMC Gastroenterol. – 2010. – № 9. – P. 103-111.

219. Friedrich-Rust, M. Liver fibrosis in viral hepatitis: noninvasive assessment with acoustic radiation force impulse imaging versus transient elastography / M. Friedrich-Rust, K. Wunder, S. Kriener, F. Sotoudeh, S. Richter, J. Bojunga, E. Herrmann, T. Poynard, C.F. Dietrich, J. Vermehren, S. Zeuzem, C. Sarrazin // Radiology. – 2009. – V. 252. – № 2. – P. 595-604.

220. Gaia, S. Reliability of transient elastography for the detection of fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease and chronic viral hepatitis / S. Gaia, S. Carenzi, A.L. Barilli, E. Bugianesi, A. Smedile, F. Brunello, A. Marzano, M. Rizzetto // J. Hepatol. - 2011. - № 54 (1). - P. 64-71.

221. Gao, B. Hepatoprotective and anti-inflammatory cytokines in alcoholic liver disease / B. Gao // J. Gastroenterol. Hepatol. - 2012. - V. 27. - P. 89-93.

222. Gao, B. STAT proteins – Key regulators of anti-viral responses, inflammation, and tumorigenesis in the liver / B. Gao et al. // J. Hepatol. – 2012. - V. 57. - № 2. - P. 430-441.

223. Garcia, Raquel Francine Liermann. Interleukin 28B-related polymorphisms: A pathway for understanding hepatitis C virus infection? / Raquel Francine Liermann Garcia, Simone Moreira, Ana Lucia de Araújo Ramos, Leslie Ecker Ferreira, Angelo Alves de Mattos, Cristiane Valle Tovo, Lysandro Alsina Nader, Juliene Antonio Ramos, Edson Rondinelli, Arnaldo de Jesus Dominici, Christian

Evangelista Garcia, Mauro de Souza Leite Pinho, Carlos Eduardo Brandão-Mello, Cristiane Alves Villela-Nogueira, Paulo Henrique Condeixa de França. //World J. Gastroenterol. - 2013. – V. 14. - №19 (42). - P. 7399.

224. Ge, D. Genetic variation in IL28 B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance / D. Ge, J. Fellay, A. J. Thompson et al. // Nature. - 2009. - V. 461. - № 7262. - P. 399-401.

225. Ghany, M. G. An Update on Treatment of Genotype 1 Chronic Hepatitis C Virus Infection: 2011 Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases / M.G. Ghany, D.R. Nelson, D.B. Strader, D.L. Thomas, L.B. Seeff // Hepatology. – 2011. – V. 54. – № 4. – P. 1433-1444.

226. Gilead Sciences I. Sofosbuvir [package insert]. 2013. Foster City, CA, Gilead Sciences, Inc.

227. Global status report on alcohol and health // Официальный сайт Всемирной Организации Здравоохранения. – 2011 [Электронный ресурс]. URL: http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/msbgsruprofiles.pdf (дата обращения 26.11.2013).

228. Gressner, A. Non-invasive biomarkers for monitoring the fibrogenic process in liver: A short survey/ A. Gressner, C. Gao, O. Gressner //World J. Gastroenterol. - 2009.- № 15 (20). - P. 2433-2440.

229. Guan, Y.S. Role of antiviral therapy in the management of hepatocellular carcinoma / Y.S. Guan, Q. He // Anticancer. Drugs. – 2013. – V. 24. – № 4. – P. 337-343.

230. Guechot, J. Independent validation of the Enhanced Liver Fibrosis (ELF) score in the ANRS HC EP 23 Fibrostar cohort of patients with chronic hepatitis C / J. Guechot, C. Trocme, J.C. Renversez, N. Sturm, J.P. Zarski, ANRS HC EP 23 Fibrostar Study Group // Clin. Chem. Lab. Med. – 2012. – V. 50. – № 4. – P. 693-699.

231. Gümüşay, O. Diagnostic potential of serum direct markers and non-invasive fibrosis models in patients with chronic hepatitis B / O. Gümüşay, S. Ozenirler, A. Atak et al. // Hepatol. Res. - 2013. - № 43 (3). - P. 228-237.

232. Gцrenek, L. Oxidative stress and antioxidant defense in patients with chronic hepatitis C patients before and after pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin therapy [Electronic resonrce] /L. Gцrenek, A.Acar, A. Aydin et al. // J. Translat. Med. – 2006. – V. 4. - P. 25. Available from: doi: 10.1186/1479-5876-4-25.

233. Hajarizadeh, B. Epidemiology and natural history of HCV infection / B. Hajarizadeh, J. Grebely, G.J. Dore // Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. – 2013. – № 9. – P. 553-562.

234. Halfon, P. Accuracy of hyaluronic acid level for predicting liver fibrosis stages in patients with hepatitis C virus / P. Halfon, M. Bourliere, G. Penaranda, R. Deydier, C. Renou, D. Botta-Fridlund, A. Tran, I. Portal, I. Allemand, A. Rosenthal-Allieri, D. Ouzan // Comp. Hepatol. – 2005. – № 4. – P. 6-13.

235. Halfon, P. IL28 gene variation predicts who will respond to interferon-based treatment of chronic hepatitis C in a french cohort/ P. Halfon, M. Bourliere, D. Ouzan et al. // L. Hepatology. - 2010. - № 52. – P. 451.

236. Hammerich, L. Interleukins in chronic liver disease: lessons learned from experimental mouse models / L. Hammerich, F. Tacke // Clinical and Experimental Gastroenterology. – 2014. – V. 7. – 297-306.

237. Hézode, C. Effectiveness of Telaprevir or Boceprevir in Treatment-Experienced Patients With HCV Genotype 1 Infection and Cirrhosis/ C. Hézode, Helene Fontaine, Celine Dorival, Fabien Zoulim, Dominique Larrey et al. // Gastroenterology. - 2014. - V. 147. - № 1. – P. 132-142.

238. Hickman, I. J. In overweight patients with chronic hepatitis C, circulating insulin is associated with hepatic fibrosis: implications for therapy/ I.J. Hickman, E.E. Powell, J.B. Prinse // J. Hepatol. - 2003. - № 39. - P. 1042-1048.

239. Hoefs, J. C. Rate of Progression of Hepatic Fibrosis in Patients With Chronic Hepatitis C: Results From the HALT-C Trial / J. C. Hoefs, Shiffman M. L, Z. G. Goodman, D. E. Kleiner, J. L. Dienstag, A. M. Stoddard // Gastroenterology. – 2011. – V. 141. - № 3. – P. 900-908.

240. Huang, Hongjin. Identification of Two Gene Variants Associated With Risk of Advanced Fibrosis in Patients With Chronic Hepatitis C/ Hongjin Huang, Mitchell

L. Shiffman, Ramsey C. Cheung, Thomas J. Layden, Scott Friedman, Olivia T. Abar, Linda Yee, Anand P. Chokkalingam, Steven J. Schrodi, Jason Chan, Joseph J. Catanese, Diane U. Leong, David Ross, Xiaolan Hu, Alexander Monto, Linda B. Mcallister, Samuel Broder, Thomas White, John J. Sninsky, Teresa L. Wright. //Gastroenterology. - 2006. – V. 130. - P. 1679-1687.

241. Hu, K.-Q. Clinical significance of elevated alpha-fetoprotein (AFP) in patients with chronic hepatitis C, but not hepatocellular carcinoma / K.-Q. Hu, N. L. Kyulo, N. Lim et al. // Am. J. Gastroenterol. – 2004. – V. 99. - № 5. – P. 860-865.

242. Hui, J.M. Insulin resistance is associated with chronic hepatitis C virus infection and fibrosis progression / J.M. Hui, A. Sud, G.C. Farrell, P. Bandara, K. Byth, J.G. Kench et al.// Gastroenterology. - 2003. - № 125. - P. 1695-1704.

243. Ichikawa, S. Magnetic resonance elastography for staging liver fibrosis in chronic hepatitis C / S. Ichikawa, U. Motosugi, T. Ichikawa, K. Sano, H. Morisaka, N. Enomoto, M. Matsuda, H. Fujii, T. Araki // Magn. Reson. Med. Sci. – 2012. – V. 11. – № 4. – P. 291-297.

244. Ishak, K.G. Chronic hepatitis: morphology and nomenclature/ K.G. Ishak // Mod. Pathol. - 1994. – V. 7. - № 7. - P.690-713.

245. Jacobson, I. Simeprevir (TMC435) with Peginterferon/Ribavirin for chronic HCV genotype 1 infection in treatment-naive patients: results from QUEST-1, a phase III trial/ I. Jacobson, G.J. Dore , G.R. Foster et al. // J. Hepatol. - 2013. - № 58. - P. 574.

246. Jensen, D. Daclatasvir and asunaprevir plus peginterferon alfa and ribavirin in HCV genotype 1 or 4 non-responders/ D. Jensen, K. Sherman, C. Hezode, S. Pol, S. Zeuzem, V. Ledinghen, A. Tran et al. // J. Hepatology. - 2015. - № 63. - P. 30-37.

247. Jensen, D. Interferon-free regimen containing setrobuvir (STV) in combination with ritonavir-boosted danoprevir (DNVr) and ribavirin (R) with or without mericitabine (MCB) in HCV genotype (G) 1 treatment-naive patients: interim SVR4 results from the ANNAPURNA study/ D. Jensen, M. Brunda, R. Elston, E. Gane et al. // J. Hepatology. - 2013. - № 58 (4). - P. 741.

248. Jiao, J. Dendritic cell regulation of carbon tetrachloride-induced murine liver fibrosis regression / J. Jiao et al. // J. Hepatology. - 2012. - V. 55.- № 1. - P. 244-255.

249. Kasprzak, A. Intracellular expression of proinflammatory cytokines (IL-1 alpha, TNF-alpha, and IL-6) in chronic hepatitis / A. Kasprzak et al. // Rocz. Akad. Med. Bialymst. - 2004. - V. 49. - № 2. - P. 207-209.

250. Kaya, S. The relationship between viral load and malondialdehyde and antioxidant enzymes in patients with hepatitis C virus infection / S. Kaya, Cetin E. Sesli et al. // Mikrobiyol. Bul. – 2006. – V. 40 (1–2). – P. 55-61.

251. Khalil, Usama. Prohepcidin Level Is Decreased In Patients with Chronic Viral C Hepatitis, and Has No Correlation with Disease Progression [Electronic resonrce] / Usama Khalil; Monkez Motae; Abdullah Abelaziz; Alsayed Ahmed Alnahal, Mahmoud Ashour // J. Am. Sci. - 2012. -№ 8 (9). - P. 333. – Available from: http://www.jofamericanscience.org.

252. Kim, D. Advanced fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: noninvasive assessment with MR elastography / D. Kim, W.R. Kim, J.A. Talwalkar, H.J. Kim, R.L. Ehman // Radiology. – 2013. – V. 268. – № 2. – P. 411-419.

253. Kim, B. K. Prospective Validation of ELF Test in Comparison with Fibroscan and FibroTest to Predict Liver Fibrosis in Asian Subjects with Chronic Hepatitis B [Electronic resonrce] / B.K. Kim, H.S. Kim, J.Y. Park, Y. Kim do, S.H. Ahn, C.Y. Chon, Y.N. Park, K.H. Han, S.U. Kim//Национальный центр биотехнологической информации США. - 2013. - Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=22848675%5Buid%5D

254. Kim, B. K. Risk assessment of clinical outcomes in asian patients with chronic hepatitis B using enhanced liver fibrosis test/ B. K. Kim, H. S. Kim, E. J. Yoo et al. // Hepatology. - 2014.Accepted article.

255. Knodell, R. G. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis/ R.G. Knodell, K.G. Ishak, W.C. Black et al. // Hepatology. - 1981.- № 1 (5). - P. 431-435.

256. Kocabayoglu, P. β-PDGF receptor expressed by hepatic stellate cells regulates fibrosis in murine liver injury, but not carcinogenesis/ P. Kocabayoglu, A. Lade, Y.A. Lee, A. Dragomir, X. Sun, M. Fiel et al. // J. of Hepatology. - 2015. - № 63. - P. 141-147.

257. Kodama, K. Hepatic and extrahepatic malignancies in cirrhosis caused by nonalcoholic steatohepatitis and alcoholic liver disease / K. Kodama, K. Tokushige, E. Hashimoto, M. Taniai, K. Shiratori // Национальный центр биотехнологической информации США. – 2013 [Электронный ресурс]. URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=23320802 (дата обращения 26.11.2013).

258. Kotb, M. A. Molecular Mechanisms of Ursodeoxycholic Acid Toxicity & Side Effects: Ursodeoxycholic Acid Freezes Regeneration & Induces Hibernation Mode / M. A. Kotb // Int. J. Mol. Sci. - 2012. - V. 13. - P. 8882-8914.

259. Kruger F.C. APRI: a simple bedside marker for advanced fibrosis that can avoid liver biopsy in patients with NAFLD/NASH / F.C. Kruger, C.R. Daniels, M. Kidd, G. Swart, K. Brundyn, C. van Rensburg , M. Kotze // S. Afr. Med. J. – 2011. – V. 101. – № 7. – P. 477–480.

260. Lai, C. Telbivudine versus lamivudine in patients with chronic hepatitis B / C. Lai, E. Gane, Y. Liaw et al // N. Engl. J. Med. – 2007. – V. 35. – P. 2576–2588.

261. Lai-Hung Wong, Grace. Transient elastography: Kill two birds with one stone? / Grace Lai-Hung Wong // World J. Hepatol. - 2013. - № 5 (5). - P. 264-274.

262. Lander, E. S. Initial sequencing and analysis of the human genome / E. S. Lander et al. // J. Nature. - 2001. - V. 409. – P. 860-921.

263. Lavanchy, D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus / D. Lavanchy // Clin. Microbiol. Infect. - 2011. - V. 17. - P. 107-115.

264. Leeming, D.J. Protein fingerprinting of the extracellular matrix remodelling in a rat model of liver fibrosis- a serological evaluation/ D.J. Leeming, I. Byrjalsen, W. Jimenez, C. Christiansen, M.A. Karsdal // Liver Int. - 2012. - № 10. - P. 1111./liv.12044.

265. Leeming, D. J. Novel serological neo-epitope markers of extracellular matrix proteins for the detection of portal hypertension/ D.J. Leeming, M. Karsdal, A. Byrjalsen, F. Bendtsen, J. Trebicka, M.J. Nielsen, C.Christiansen, S. Møller, A. Krag // Aliment Pharmacol. Ther. - 2013. - № 38 (9). - P. 1086-1096.

266. Lerat, H. Hepatitis C virus proteins induce lipogenesis and defective triglyceride secretion in transgenic mice/ H. Lerat, H.L. Kammoun, E. Merour, M.R. Higgs, C. Callenc et al. // J. Biol. Chem.- 2009. - № 284. - P. 33466-33474.

267. Leung, V.Y. Quantitative elastography of liver fibrosis and spleen stiffness in chronic hepatitis B carriers: comparison of shear-wave elastography and transient elastography with liver biopsy correlation / V.Y. Leung, J. Shen, V.W. Wong, J. Abrigo, G.L. Wong, A.M. Chim, S.H. Chu, A.W. Chan, P.C. Choi, A.T. Ahuja, H.L. Chan, W.C. Chu // Radiology. – 2013. – V. 269. – № 3. – P. 910-918.

268. Levent, G. Oxidative stress and antioxidant defense in patients with chronic hepatitis C patients before and after pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin therapy / G. Levent, A. Ali, A. Ahmet, E.C. Polat, C. Aytac, E. Ayse et al. // J. Transl. Med. - 2006. - №4. - P. 25.

269. Li, K. Activation of chemokine and inflammatory cytokine response in hepatitis C virus-infected hepatocytes depends on Toll-like receptor 3 sensing of hepatitis C virus double-stranded RNA intermediates / K. Li et al. // Hepatology. - 2012. - V. 55. - № 3. - P. 666-675.

270. Li, C. Diagnostic accuracy of des-gamma-carboxy prothrombin versus α-fetoprotein for hepatocellular carcinoma: a systematic review/ C. Li, Z. Zhang, P. Zhang, J. Liu // Hepatol. Res. - 2014. - № 44. - P.11-25.

271. Lichtinghagen, R. The Enhanced Liver Fibrosis (ELF) score: normal values, influence factors and proposed cut-off values / R. Lichtinghagen, D. Pietsch, H. Bantel, M.P. Manns, K. Brand, M.J. Bahr // J. Hepatol. – 2013. – V. 59. – № 2. – P. 236-242.

272. Liu, T. Molecular serum markers of liver fibrosis / T. Liu, X. Wang, M.A. Karsdal, D.J. Leeming, F. Genovese // Biomark. Insights. – 2012. – № 7. – P. 105-117.

273. Lin, Z. H. Performance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the staging of hepatitis C-related fibrosis: an updated meta-analysis / Z.H. Lin, Y.N. Xin, Q.J. Dong, Q. Wang, X.J. Jiang, S.H. Zhan, Y. Sun, S.Y. Xuan // Hepatology. – 2011. – V. 53. – № 3. – P. 726-736.

274. Liu, X. Photochemically Inactivated Hepatitis B Virus Promotes Upregulation of Th1-Type Cytokines / X. Liu et al. // Photochem. Photobiol. - 2012. - V. 88. - № 5. - P. 1287-1292.

275. Lok, Anna S. Des-γ-Carboxy Prothrombin and α-Fetoprotein as Biomarkers for the Early Detection of Hepatocellular Carcinoma/ Anna S. Lok, Richard K. Sterling, James E. Everhart, Elizabeth C. Wright, John C. Hoefs, Adrian M. Di Bisceglie, Timothy R. Morgan, Hae–Young Kim, William M. Lee, Herbert L. Bonkovsky. //Gastroenterology. - 2010. - V. 138. - № 2. - P. 493.

276. Lubel, J. S. Liver disease and the renin-angiotensin system: recent discoveries and clinical implications / J. S. Lubel et al. // J. Gastroenterol. Hepatol. - 2008. - V. 23. - № 9. - P. 1327-1338.

277. Lucidarme, D. Factors of accuracy of transient elastography (fibroscan) for the diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis C / D. Lucidarme, J. Foucher, Bail B. Le, L. Vergniol, L. Castera, C. Duburgue et al. // Hepatology. - 2009. - № 49. - P. 1083-1089.

278. Lupsor Platon, Monica. Performance of Unidimensional Transient Elastography in Staging Chronic Hepatitis C. Results from a Cohort of 1, 202 Biopsied Patients from one Single Center / Monica Lupsor Platon, Horia Stefanescu, Diana Feier, Anca Maniu, Radu Badea //Gastrointestin. Liver Dis. - 2013. - V. 22. - № 2. - P. 157.

279. Mahadeva, S. Performance of transient elastography (TE) and factors associated with discordance in non-alcoholic fatty liver disease / S. Mahadeva, A.S. Mahfudz, A. Vijayanathan , K.L. Goh, A. Kulenthran, P.L. Cheah // J. Dig. Dis. – 2013. – V. 14. – № 11. – P. 604–610.

280. Mahmoud, A. A. Serum TGF-β, Serum MMP-1, and HOMA-IR as non-invasive predictors of fibrosis in Egyptian patients with NAFLD/ A. A. Mahmoud, A. S. Bakir, S. S. Shabana // Saudi J. Gastroenterol. - 2012. - № 18 (5). - P. 327-233.

281. Maida, I. Severe liver disease associated with prolonged exposure to antiretroviral drugs / I. Maida, M. Nunez, Rios M. Jose et al. // J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol. – 2006. – V. 42. - № 2. – P. 177-182.

282. Mallet, V. Brief Communication: the relationship of regression of cirrhosis to outcome in chronic hepatitis C / V. Mallet, H. Gilgenkrantz, J. Serpaggi // Ann. Intern. Med. – 2008. – V. 149. - № 6. – P. 399–403.

283. Marcellin, P. Telaprevir Is Effective Given Every 8 or 12 Hours With Ribavirin and Peginterferon Alfa-2a or -2b to Patients With Chronic Hepatitis C [Electronic resonrce] /P. Marcellin, Xavier Forns, Tobias Goeser, Peter Ferenci, Frederik Nevens, Giampiero Carosi, Joost P. Drenth, Lawrence Serfaty, Koen De Backer, Rolf Van Heeswijk, Donghan Luo, Gaston Picchio, Maria Beumont //Gastroenterology. - 2011. - V. -140. - № 2. - P. 459. - Available from: http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2010.10.046

284. Marinho, R. T. Effects of interferon and ribavirin combination therapy on CD4+ proliferation, lymphocyte activation, and Th1 and Th2 cytokine profiles in chronic hepatitis C / R.T. Marinho, R. Pinto, M.L. Santos et al. // J. Viral. Hepatol. – 2004. – V. 11. – P. 206-216.

285. Martinez, S. M. Assessment of liver fibrosis before and after antiviral therapy by different serum marker panels in patients with chronic hepatitis C / S.M. Martinez, G. Fernandez-Varo, P. Gonzalez, E. Sampson, M. Bruguera, M. Navasa, W. Jimenez, J. M. Sanchez-Tapias, X. Forns // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2011. – V. 33. – № 1. – P. 138-148.

286. Marzouk, Hanan A. Hepcidin Levels in Egyptian Patients with Chronic Hepatitis C and the Effect of Anti-Viral Therapy/ Hanan A. Marzouk, Naglaa A. Zayed, Mahmoud Al-Ansary, Mohamed S. Abdelbary, Shereen S. Hunter, Wael Safwat, Moustafa Abdel-Moneim, Olfat Shake //World Applied Sciences Journal. - 2013. - № 22 (8).-P. 1140.

287. McPherson, Stuartt. Anstee / Stuartt McPherson, Tim Hardy, Elsbeth Henderson, Alastair D. Burt, Christopher P. Day, M. Quentin // J. of Hepatol. - 2015. -V. 62. - № 5. - P. 1148-1155.

288. Moriya, K. Hepatitis C virus core protein induces hepatic steatosis in transgenic mice / H. Yotsuyanagi, Y. Shintani, H. Fujie, K. Ishibashi, Y. Matsuura // J Gen Virol. – 1997. - № 78. – P. 1527–1531.

289. Muzzi, A. Insulin resistance is associated with liver fibrosis in non-diabetic chronic hepatitis C patients/ A. Muzzi, G. Leonardo, L. Rubbia-Brandt // J. Hepatol. - 2005. - № 42. - P. 41-46.

290. Myers, R. P. Prevalence, risk factors and causes of discordance in fibrosis staging by transient elastography and liver biopsy/ R.P. Myers, P. Crotty, G. Pomier-Layrargues, M. Ma, S.J. Urbanski, M. Elkashab // Liver Int. - 2010. - №30. - P. 1471-1480.

291. Nagaoki Y. Recent trend of clinical features in patients with hepatocellular carcinoma / Y.Nagaoki, H. Hyogo, H. Aikata, M. Tanaka, N. Naeshiro, T. Nakahara, Y. Honda, D. Miyaki, T. Kawaoka, S.Takaki, A. Hiramatsu, K. Waki, M. Imamura, Y. Kawakami, S. Takahashi, K. Chayama // Hepatol. Res. - 2012. – V. 42. – № 4. – P. 368–375.

292. Naggie, S. Management of hepatitis C virus infection: the basics / S. Naggie // Top. Antivir. Med. - 2012. – V. 20. – № 5. – P. 154-161.

293. Nakagawa, Hayato. Impact of serum levels of interleukin-6 and adiponectin on all-cause, liver-related, and liver-unrelated mortality in chronic hepatitis C patients/ Hayato Nakagawa, Naoto Fujiwara, Ryosuke Tateishi, Toru Arano, Ryo Nakagomi // Journal of Gastroenterology and Hepatology.- 2015. -V. 30. - № 2.- P. 379.

294. Nakamoto, S. Association between mutations in the cor region of hepatitis C virus genotype 1 and hepatocellular carcinoma development/ S. Nakamoto, F. Imazeki, K. Fukaiet et al. // J. Hepatol. - 2010. - № 52. - P. 72-78.

295. Nebert, D.W. Polymorphisms in drug metabolizing enzymes: what is their clinical relevance and why do they exist / D.W. Nebert // Am. J. Hum. Genet. — 1997. — V. 60. — P. 265-271.

296. Negro, F. The global health burden of hepatitis C virus infection/ F. Negro, A. Alberti // Liver Int. - 2011. - № 31. - P. 1-3.

297. Neuscbuander – Tetri, B.A. Chemotactic activity for human PMN generated during ethanol metabolism by rat hepatocytes: role of glutathione and glutathione peroxidase // B.A. Neuscbuander – Tetri, Fj. Roll // Biochem Biopbys Res Commun. – 1990. – V. 167. – P. 1170-1176.

298. Ochodo, E. A. Reporting the accuracy of diagnostic tests: the STARD initiative 10 years on/ E.A. Ochodo, P.M. Bossuyt // Clin. Chem. - 2013. - № 59. - P. 917-919.

299. Omran, M. M. Fibro-α score as a simple and useful non-invasive test for predicting significant liver fibrosis in chronic hepatitis C patients / M. M. Omran, K. Farid, T.M. Emran, A.A. Attalah // Arab. J. Gastroenterol. - 2011. -V. 12. - № 2. - P. 74-79.

300. Paracha, U. Z. Oxidative stress and hepatitis C virus [Electronic resonrce] / U.Z. Paracha, K. Fatima, M. Alqahtani, A. Chaudhary, A. Abuzenadah, G. Damanhouri et al. // Virol. J. - 2013. - № 10. - P. 251. Available from: DOI:10.1186/1743-422X-10-251

301. Parola, M. Oxidative stress-related molecules and liver fibrosis / M. Parola, G. Robino / J. Hepatol. – 2001. – V. 35. – P. 297-306.

302. Parsian, Hadi. Serum hyaluronic acid and laminin as biomarkers in liver fibrosis / Hadi Parsian, Ali Rahimipour, Mohammad Nouri et al. // Journal of gastrointestinal and liver diseases. - 2010. -№ 19 (2). - P. 169-174.

303. Patel, K. Clinical use of hyaluronic acid as a predictor of fibrosis change in hepatitis C/ K. Patel, A. Lajoie, S. Heaton, S. Pianko, C.A. Behling, D. Bylund, P.J. Pockros, L.M. Blatt, A. Conrad, J.G. McHutchinson // J. Gastroenterol. Hepatol. - 2003. - № 18. - P. 253-257.

304. Patton, H. M. The impact of steatosis on disease progression and early and sustained treatment response in chronic hepatitis C patients/ H.M. Patton, K. Patel, C. Behling // J. Hepatol. - 2004. - № 40. - P. 484-490.

305. Piche, T. The severity of liver fibrosis is associated with high leptin levels in chronic hepatitis C/ T. Piche, F. Vandenbos, A. Abakar-Mahamat, G. Vanbiervliet, E.M. Barjoan, G. Calle et al. // J.Viral. Hepat. - 2004. - № 11. - P. 91-96.

306. Pinzani, M. Fibrosis in chronic liver diseases: diagnosis and management/ M. Pinzani, K. Rombouts, S. Colagrande // J. Hepatol. - 2005. – V. 42. - P. 22-36.

307. Plompen, E.P.C. Prothrombotic genetic risk factors are associated with an increased risk of liver fibrosis in the general population. The Rotterdam Study / E.P.C. Plompen, S. Darwish Murad, B.E. Hansen, D.W. Loth, J.N.K. Schouten, P. Taimr, A. Hofman, A.G. Uitterlinden, B.N. Stricker // J.of Hepatol. - 2015. – V. 63. - № 6. - P. 1459-1465.

308. Poordad, F. IL28B polymorphism predicts virological response in patients with chronic hepatitis C genotype 1 treated with boceprevir (BOC) combination therapy/ F. Poordad, J.P. Bronowicki, S.C. Gordon et al. //J. Hepatol. - 2011. - №54.- P. 6.

309. Povero, D. Liver fibrosis: a dynamic and potentially reversible process/ D. Povero, Chiara Busletta, Erica Novo, Lorenzo Valfrè di Bonzo, Stefania Cannito, Claudia Paternostro, Maurizio Parola // Histol. Histopathol. - 2010. - № 25. - P. 1075-1091.

310. Poynard, T. Effect of treatment with peginterferon or interferon alfa-2b and ribavirin on steatosis in patients infected with hepatitis C/ T. Poynard, V. Ratziu, J. McHutchison, M. Manns, Z. Goodman, S. Zeuzem et al. // Hepatology. - 2003. - № 38. - P. 75-85.

311. Poynard, T. Biomarkers of liver injury for hepatitis clinical trials: a meta-analysis of longitudinal studies / T. Poynard, Y. Ngo, M. Munteanu, D. Thabut, J. Massard, J. Moussalli, A. Varaud, Y. Benhamou, V. Ratziu // Antivir. Ther. – 2010. – V. 15. – № 4. – P. 617-631.

312. Poynard, T. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The Obsvirc, metavir, clinivir and dosvirc groups/ T. Poynard, P. Bedossa, P. Opolon // Lancet. - 1997. - № 349. -P. 825-832.

313. Poynard, T. Noninvasive Markers of Hepatic Fibrosis in Chronic Hepatitis B / T. Poynard, Y. Ngo, M. Munteanu, D. Thabut, V. Ratziu // Curr. Hepat. Rep. – 2011. – V. 10. – № 2. – P. 87-97.

314. Poynard, T. Meta-analyses of FibroTest diagnostic value in chronic liver disease / T. Poynard, R. Morra, P. Halfon, L. Castera, V. Ratziu, F. Imbert-Bismut, S. Naveau, D. Thabut, D. Lebrec, F. Zoulim, M. Bourliere, P. Cacoub, D. Messous, M. Munteanu, V. de Ledinghen // BMC Gastroenterol. – 2007. – № 7. – P. 40-51.

315. Poynard, T. Performance of biomarkers FibroTest, ActiTest, SteatoTest, and NashTest in patients with severe obesity: meta analysis of individual patient data [Electronic resonrce] / T. Poynard, G. Lassailly, E.Diaz, K. Clement, R. Caiazzo, J. Tordjman, M. Munteanu, H. Perazzo, B. Demol, R. Callafe, F. Pattou, F. Charlotte, P. Bedossa, P. Mathurin, V. Ratziu, FLIP consortium // Национальный центр биотехнологической информации США. - 2013. - Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=22431959%5Buid%5D

316. Promrat, K. Associations of chemokine system polymorphisms with clinical outcomes and treatment responses of chronic hepatitis C / K. Promrat, D. H. McDermott, C. M. Gonzalez et al. // Gastroenterology. - 2003. - V. 124. - № 2. - P. 352-360.

317. Ratziu, V. Worsening of steatosis and fibrosis progression / V. Ratziu, M. Saboury, T. Poynard // Gut. – 2003. - № 52. - P. 1386-1387.

318. Rauch, A. Genetic variation in IL28 B is associated with chronic hepatitis C and treatment failure: a genome-wide association study / A. Rauch, Z. Kutalik, P. Descombes et al. // Gastroenterology. - 2010. -V. 138. - № 4. - P. 1338-1345.

319. Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C //AASLD. - 2014.

320. Righi, S. ARFI elastography in patients with chronic autoimmune liver diseases: A preliminary study / S. Righi, E. Fiorini, C. De Molo et al. // J. Ultrasound. - 2012. - № 15 (4). - P. 226-231.

321. Rockey, D. C. Noninvasive measures of liver fibrosis / D.C. Rockey, D.M. Bissell // Hepatology. — 2006. — № 43. — P. 113-120.

322. Roingeard, P. Hepatitis C virus diversity and hepatic steatosis / P. Roingeard // J. Viral. Hepat. - 2013. - № 20. - P. 77-84.

323. Rojas, A. Hepatitis C virus infection alters lipid metabolism depending on IL28B polymorphism and viral genotype and modulates gene expression in vivo and in vitro/ A. Rojas, L. A. Del Campo, M. Maraver, R. Aparcero, M. Garcia-Valdecasas, M. Diago // J. Viral. Hepat. - 2014. - № 21. - P. 19-24.

324. Romero-Gomez, M. Serum leptin levels correlate with hepatic steatosis in chronic hepatitis C/ M. Romero-Gomez, V. M. Castellano-Megias, L. Grande, J. A. Irles, M. Cruz, M. C. Nogales et al. // Am. J. Gastroenterol. - 2003. - № 98. - P. 1135-1141.

325. Rosen, H. R. Chronic hepatitis C infection / H. R. Rosen // New England Journal of Medicine. - 2011. - V. 364. - № 25. - P. 2429-2438.

326. Rousselet, M. C. Sources of variability in histological scoring of chronic viral hepatitis / M.C. Rousselet, S. Michalak, F. Dupre et al. // Hepatology. - 2005. - № 41 (2). – P. 257-264.

327. Sahin, H. Chemokine Cxcl9 attenuates liver fibrosis-associated angiogenesis in mice / H. Sahin et al. // Hepatology. - 2012. - V. 55. - № 5. – P. 1610-1619.

328. Saitou, Y. Noninvasive estimation of liver fibrosis and response to interferon therapy by a serum fibrogenesis marker, YKL-40, in patients with HCV-associated liver disease/ Y. Saitou, K. Shiraki, Y. Yamanaka et al. // World J. Gastroenterol. - 2005. - № 28 (4). – P. 476-481.

329. Saraswat, V. A. Relationship between pro-inflammatory cytokines and cerebral edema in acute-on-chronic liver failure / V.A. Saraswat et al. // J. Hepatol. - 2011. - V. 54. - № 1. - P. 250.

330. Sarvazyan, A. P. Quantitative elastography of liver fibrosis and spleen stiffness in chronic hepatitis B carriers: comparison of shear-wave elastography and transient elastography with liver biopsy correlation / A.P. Sarvazyan, O.V. Rudenko, S.D. Swanson, J.B. Fowlkes, S.Y. Emelianov // Radiology. – 2013. – V. 269. – № 3. – P. 910-918.

331. Sebastiani, G. Performance of noninvasive markers for liver fibrosis is reduced in chronic hepatitis C with normal transaminases/ G. Sebastiani, A. Vario, M. Guido et al. // J. Viral. Hepat. - 2008. - № 15 (3). - P. 212-218.

332. Schiavon, L. Non-invasive diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis C/ L. Schiavon, J. Narciso-Schiavon, R. J. de CarvalhoFilho // World J. Gastroenterol. – 2014. - № 20 (11). –P. 2854-2866.

333. Shaheen, A.A. FibroTest and FibroScan for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: a systematic review of diagnostic test accuracy / A.A. Shaheen, A.F. Wan, R.P. Myers // Am. J. Gastroenterol. – 2007. – V. 102. – № 11. – P. 2589–2600.

334. Shimizu, I. Ito Serum amino terminal propeptide of typeIII procollagen and 7S domain of type IV collagen correlate with hepatic iron concentra tion in patients with chronic hepatitis C follo wing alpha interferon therapy / I. Shimizu, T. Omoya, T. Takaoka et al. // J. Gastroenterol. Hepatol. - 2001. - V. 16. - № 2. – P. 196-200.

335. Sookoian, S. Effects of six months losartan administration on liver fibrosis in chronic hepatitis C patients: a pilot study / S. Sookoian, M.A. Fernandez, G. Castano // World. J. Gastroenterol. - 2005. - V. 11. - P. 7560-7563.

336. Sporea, I. Liver elastography - an update / I. Sporea, O.H. Gilja, S. Bota, R. Sirli, A. Popescu // Med. Ultrason. – 2013. – V. 15. – № 4. – P. 304–314.

337. Sporea, I. Why, who and how should perform liver biopsy in chronic liver diseases / I. Sporea, A. Popescu, R. Sirli // World. J. Gastroenterol. – 2008. – V. 14. – № 21. – P. 3396-3402.

338. Stebbing, J. A meta-analysis of transient elastography for the detection of hepatic fibrosis / J. Stebbing, L. Farouk, G. Panos, M. Anderson, L.R. Jiao, S. Mandalia, M. Bower, B. Gazzard, M. Nelson // J. Clin. Gastroenterol. – 2010. – V. 44. – № 1. – P. 214–219.

339. Strauss, R. Hepatocellular carcinoma and other primary liver cancers in hepatitis C patients in Sweden–a low endemic country/ R. Strauss, A. Törner, A. S. Duberg, R. Hultcrantz, K. Ekdahl // J. of Viral. Hepatitis. - 2008. - V. 15. - № 7. - P. 531-537.

340. Suh, Y. G. Hepatic stellate cells and innate immunity in alcoholic liver disease / Y.G. Suh, W.I. Jeong // World J. Gastroenterol. – 2011. – V. 17. – № 20. – P. 2543-2551.

341. Szymczak, A. Safety and effectiveness of blind percutaneous liver biopsy: analysis of 1412 procedures / A. Szymczak, K. Simon, M. Inglot, A. Gladysz // Hepat. Mon. - 2012. - V. 12. - № 1. - P. 32-37.

342. Tada, Toshifumi. Utility of real-time shear wave elastography for assessing liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C infection without cirrhosis: Comparison of liver fibrosis indices [Electronic resonrce] / Toshifumi Tada, Takashi Kumada, Hidenori Toyoda, Takanori Ito, Yasuhiro Sone, Seiji Okuda, Nozomi Tsuji, Yumi Imayoshi, Eisuke Yasuda // Hepatology Research. - 2015. – Available from: DOI: 10.1111/hepr.12476.

343. Tai, W.C. Clinical implications of alpha-fetoprotein in chronic hepatitis C / W.C. Tai, T.H. Hu, J.H. Wang et al. // J. Formos Med. Assoc. - 2009. - V. 108. - № 3. - P. 210-218.

344. Thomas, D. L. Global control of hepatitis C: where challenge meets opportunity / D.L. Thomas // Nat. Med. - 2013. - № 19. – P. 850-858.

345. Thompson, A. J. Interleukin-28B polymorphism improves viral kinetics and is the strongest pretreatment predictor of sustained virologic response in genotype 1 hepatitis C virus / A.J. Thompson, A.J. Muir, M.S. Sulkowski et al. // Gastroenterology. - 2010. - V. 139. - № 1. - P. 120-129.

346. Tianhui, L. Molecular Serum Markers of Liver Fibrosis / L. Tianhui, Xiaoming Wang, M.A. Karsdal, D.J. Leeming // Presse Med. -2012. - № 7. - P. 105-117.

347. Tillman, H. L. A polymorphism near IL28B is associated with spontaneous clearance of acute hepatitis C virus and jaundice / H.L. Tillman, A.J. Thompson, K. Patel, M. Wiese, H. Tenckhoff et al. // Gastroenterology. - 2010. - № 139 (5). - P. 1586-1592.

348. Topic, A. Diagnostic characteristics and application of alcohol biomarkers / A. Topic, M. Djukic // Clin. Lab. - 2013. - V. 59. - № 3. - P. 233-245.

349. Trinks, Julieta. Clinical utility of pharmacogenomics in the management of hepatitis C/ Julieta Trinks, María Laura Hulaniuk María Ana Redal, Diego Flichman // Pharmacogenomics and Personalized Medicine. - 2014. - № 7. - P. 339-347.

350. Trocme, C. Longitudinal evaluation of a fibrosis index combining MMP-1 and PIIINP compared with MMP-9, TIMP-1 and hyaluronic acid in patients with chronic hepatitis C treated by interferon-alpha and ribavirin / C. Trocme, V. Leroy, N. Sturm et al. // J. Viral. Hepat. - 2006. - № 13 (10). - P. 643-651.

351. Tsochatzis, E.A. Elastography for the diagnosis of severity of fibrosis in chronic liver disease: a meta-analysis of diagnostic accuracy / E.A. Tsochatzis, K.S. Gurusamy, S. Ntaoula, E. Cholongitas, B.R. Davidson, A.K. Burroughs // J. Hepatol. – 2011. – V. 54. – № 4. – P. 650–659.

352. Vallet-Pichard, A. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest / A. Vallet-Pichard, V. Mallet, B. Nalpas et al. // J. Hepatology. - 2007. - № 46 (1). - P. 32-36.

353. Venkatesh, S. K. Magnetic resonance elastography for the detection and staging of liver fibrosis in chronic hepatitis B / S.K. Venkatesh, S.G. Wang Lim, A. Wee // Eur. Radiol. - 2014. - V. 24. - № 1. - P. 70-78.

354. Voumvouraki, A. Serum surrogate markers of liver fibrosis in primary biliary cirrhosis / A. Voumvouraki, M. Koulentaki, G. Notas et al. // Eur. J. Intern. Med. - 2011. - № 22 (1). - P. 77-83.

355. Wang, Q. B. Performance of magnetic resonance elastography and diffusion-weighted imaging for the staging of hepatic fibrosis: A meta-analysis / Q.B. Wang, H. Zhu, H. L. Liu, B. Zhang // Hepatology. – 2012. – V. 56. – № 1. – P. 239-247.

356. Weinmann, A. Hepatocellular Carcinoma Patients Between 1998 and 2009: An Analysis of 1066 Cases of a German HCC Registry / A. Weinmann, S. Koch, I.M. Niederle, H. Schulze-Bergkamen, J. König, M. Hoppe-Lotichius, T. Hansen , M.B. Pitton, C. Düber, G. Otto, M. Schuchmann, P.R. Galle, M.A. Wörns // Национальный центр биотехнологической информации США. – 2013 [Электронный ресурс]. URL:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=24045276%5Buid%5D (дата обращения 26.11.2013).

357. Westin, J. Steatosis accelerates fibrosis development over time in hepatitis C virus genotype 3 infected patients / J. Westin, H. Nordlinder, M. Lagging, G. Norkrans, R. Wejstal // J. Hepatology. – 2002. - № 37. – P. 837-842.

358. WHO, Hepatitis C [Electronic resonrce]. –: Fact sheet. -2014. - №164. - Available from: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/.

359. Wilson, C.L. Ubiguitin C-terminal hydrolase 1: A novel functional marker for liver myofibroblasts and a therapeutic target in chronic liver disease / C.L.Wilson, L.B. Murphy, J. Leslie, S. Kendrick, J. French, C.R. Fox, N.S. Sheerin, A. Fisher, J.H. Robinson, D.G. Tiniakos, D.A. Gray, F. Oakley, D.A. Mann // Journal of Hepatology. – 2015. – V. 63. - № 6 – P. 1421-1428.

360. Wolffran, I. Prevalence of elevated ALT values, HbsAg, and anti-HCV in the primary care setting and evaluation of guideline defined hepatitis risk scenarios / I. Wolffran, D. Petroff, O. Batz et al. // J. of Hepatology. - 2015. - № 62. - P. 1256-1264.

361. Woon Kim, Young. Diagnostic Usefulness of Real-Time Elastography for Liver Fibrosis in Chronic Viral Hepatitis B and C [Electronic resonrce] / Young Woon Kim, Jung Hyun Kwon, Jeong Won Jang, Min Ju Kim, Byong Sun Oh, Kyu Won Chung, Eun Su Park, Soon Woo Nam // Gastroenterology Research and Practice. - 2014. - P. 7. Available from: http://dx.doi.org/10.1155/2014/210407.

362. Wynn, A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis / A. Wynn // J. Pathol. - 2008. - № 214. - P. 199-210.

363. Yang, J. D. Hepatocellular carcinoma: a global view / J. D. Yang, L. R. Roberts // Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. - 2010. - V. 7. - P. 448.

364. Yang, Liu. Vascular Endothelial Growth Factor Promotes Fibrosis Resolution and Repair in Mice [Electronic resonrce] / Liu Yang, Junghee Kwon, Yury Popov, Gabriella B. Gajdos, Tamas Ordog, Rolf A. Brekken, Debabrata Mukhopadhyay, Detlef Schuppan, Yan Bi, Douglas Simonetto, Vijay H. Shah. // Gastroenterology.

- 2014. - V. 146. - № 5. - P. 1339. – Available from: http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2014.01.061.

365. Yilmaz, Y. Noninvasive assessment of liver fibrosis with the aspartate transaminase to platelet ratio index (APRI): Usefulness in patients with chronic liver disease: APRI in chronic liver disease / Y. Yilmaz, O. Yonal, R. Kurt, M. Bayrak , B. Aktas, O. Ozdogan // Hepat. Mon. – 2011. – V. 11. – № 2. – P. 103–106.

366. Yoneda, M. Transient elastography in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) / Yoneda M., K. Fujita, M. Inamori, M. Tamano, H. Hiriishi, A. Nakajima // Gut. – 2007. – V. 56. – № 9. – P. 1330–1331.

367. Younossi, Z. M. Obesity and non-alcoholic fatty liver disease in chronic hepatitis C / Z. M. Younossi, A. J. McCullough, J. P. Ong, D. S. Barnes, A. Post, A. Tavill et al. // J. Clin. Gastroenterol. - 2004. - № 38. - P. 705-709.

368. Zheng, Z. Exposure to fine airborne particulate matters induces hepatic fibrosis in murine models / Z. Zheng, X. Zhang, J. Wang, A. Dandekar, H. Kim, Y. Qiu, X. Xu, Y. Cui, A. Wang, L.C. Chen, S. Rajagpalan, Q. Sun, K. Zhang // Journal of Hepatology. – 2015. – V. 63. - № 6. – P. 1397-1404.