

**УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ»**

УДК 616.36 – 002.2-022.6 – 08-091.8:615.37

**ЛУКАШИК Светлана Петровна**

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ  
ОЦЕНКИ РЕЗУЛЬТАТОВ ТЕРАПИИ И ПРОГНОЗА  
РЕЦИДИВОВ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С**

14.00.10 – инфекционные болезни

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание учёной степени  
кандидата медицинских наук

Минск 2006

Работа выполнена в учреждении образования  
«Гродненский государственный медицинский университет»

**Научный руководитель:** доктор медицинских наук, профессор  
**Цыркунов В.М.**, учреждение образования  
«Гродненский государственный  
медицинский университет», зав. кафедрой  
инфекционных болезней с курсом детских  
инфекций

**Официальные оппоненты:** доктор медицинских наук,  
**Доценко М.Л.**, учреждение образования  
«Белорусский государственный  
медицинский университет», профессор  
кафедры инфекционных болезней

доктор медицинских наук, профессор  
**Семенов В.М.**, учреждение образования  
«Витебский государственный медицинский  
университет», зав. кафедрой  
инфекционных болезней

**Оппонирующая организация:** учреждение образования «Белорусская  
медицинская академия последипломного  
образования»

Защита диссертации состоится “26” мая 2006 г. в 14 часов на заседании  
совета по защите диссертации Д03.18.04 при учреждении образования  
«Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116 г.  
Минск, проспект Дзержинского, 83, тел. 272-55-98.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Белорусский  
государственный медицинский университет»

Автореферат разослан «21» апреля 2006 г.

**Ученый секретарь**  
совета по защите диссертаций,  
кандидат медицинских наук, доцент



А.М. Близнюк

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### *Актуальность диссертации*

НСV-инфекция и вызываемые ею патологические процессы в печени до настоящего времени определяют особую актуальность данной инфекционной патологии, относящейся к наиболее нерегулируемым среди других инфекций. Развитие первичной хронизации, прогрессирование хронического гепатита в цирроз, отсутствие эффективных мер профилактики, включая вакцинацию, сложные медико-социальные аспекты, связанные с лечением и другими психологическими проблемами, требуют постоянного совершенствования лечебно-диагностического процесса, направленного на снижение последствий данной патологии (Серов В.В., Апросина З.Г., 2002; Ключарева А.А., 2003; Лучшев В.И., Санин Б.И., Жаров С.Н., 2004).

Несмотря на многочисленные исследования по проблеме хронического гепатита С (ХГС), менее изученным разделом является патоиммуномофогенез болезни. Начиная с 70-х годов XX века, произошел прорыв в фундаментальной биохимии, связанный с открытием апоптоза, что позволило пересмотреть существующий взгляд на патогенез хронических гепатитов и стимулировать исследования, посвященные апоптозу и механизмам его индукции в развитии поражений печени (Аруин Л.И., 1998; Буеверов А.О., 1998; Дмитриева Е.В., Москалев Е.Ю., Северин Е.С., 2003; Kerr J.F.R., Wyllie A.H., Currie A. R., 1972). Однако до сих пор механизмы повреждения ткани печени при ХГС до конца не изучены, а критерии разграничения ХГС по существующим морфологическим показателям активности процесса не всегда совпадают с реальной гистологической картиной (Логинов А.С., Аруин Л.И., 1985; Подымова С.Д., 1998; Ncuraan M., Malkicwicz I., Benhamou J.P., 1999).

В современной гепатологии остро стоит проблема противовирусной терапии гепатитов в связи с недостаточной эффективностью интерферонотерапии (ИФТ) (Лобзин Ю.В., Жданов К.В., Волжанин В. М., 1999; Шерлок Ш., Дули Дж., 1999). Несмотря на совершенствование технологии противовирусных средств, появление пегилированных интерферонов, проведение комбинированной терапии, ключевой проблемой являются вопросы, связанные с низкой эффективностью лечения, высокой частотой рецидивов, прогрессированием гепатитов в цирроз и рак (Майер К.-П., 1999; Трепо С., Vizallon T., 1992). Безысходность ситуации, в которую попадают больные, пролеченные интерферонами (ИФН) с последующим развитием рецидива, требует принятия квалифицированного решения (определения прогноза) еще до начала специфической терапии и применения противорецидивного лечения.

Научно обоснованный поиск патогенетических причин, лежащих в основе формирования индивидуального ответа на болезнь и проводимое лечение, квалифицированное определение индивидуальных показаний (противопоказаний) при назначении (продлении, отмене) терапии, основанных на применении различных морфологических показателей, обоснование

противорецидивного метода терапии и многое другое, позволят повысить качество жизни больных ХГС, снизить социально-экономические затраты, связанные с проведением диагностики и лечения.

В связи с этим, основным направлением работы стало применение комплексного метода, основанного на одновременном применении у одного больного различных морфологических методик оценки биоптата печени в динамике ИФТ, с целью разработки критериев прогноза стабильной ремиссии и возможного развития рецидива, а также обоснования противорецидивной схемы терапии больных ХГС.

### ***Связь работы с крупными научными программами, темами***

Работа выполнялась в рамках плановой НИР кафедры: «Разработка и внедрение методов прогнозирования, мониторинга и оценки эффективности терапии хронических вирусных гепатитов и другой патологии печени», № госрегистрации – 200282, дата регистрации – 08.01.2002.

### ***Цель исследования***

Оценить диагностическое и прогностическое значение комплексного морфологического исследования биоптата печени больных ХГС при разных вариантах ответов на ИФТ.

### ***Задачи исследования***

1. Изучить характер морфологических (гистологических, ультраструктурных и цитологических) изменений биоптата печени при ХГС.
2. Оценить влияние рекомбинантного интерферона альфа-2 на печень при разных вариантах ответа на ИФТ и установить причины развития рецидивов.
3. Разработать морфологические (гистологические, цитологические) критерии прогноза стойкой ремиссии и рецидива ХГС.
4. Обосновать и апробировать схемы противорецидивной терапии больных ХГС.

### ***Объект и предмет исследования***

Объектом исследования были больные ХГС, находящиеся на длительной ИФТ с различными вариантами ответов, включая рецидивы болезни. Предмет исследования – гемограмма, биохимический анализ крови, ИФА, ПЦР, УЗИ печени, биоптаты печени.

### ***Гипотеза***

Комплексная оценка морфологических изменений (ультраструктурных, цитологических, морфометрических) в печени позволяет уточнить механизмы повреждения печени при ХГС, оценить влияние ИФТ на патологический процесс, прогнозировать эффективность ИФТ и рецидивы.

### ***Методология и методы проведенного исследования***

Методами исследования были: клинические (опрос и объективный

осмотр больных); лабораторные (показатели гемограммы, биохимические исследования в крови билирубина и АлАТ); молекулярно-генетические (ПЦР-анализ - РНК HCV, определение титра, генотипа HCV); иммунологические (ИФА-анти-HCV); морфологические (биоптат печени): гистологические, цитологические, морфометрические, ультраструктурные.

### ***Научная новизна и значимость полученных результатов***

Впервые получены следующие результаты:

- впервые выявлен комплекс характерных морфологических изменений (гистологических, цитологических, морфометрических, ультраструктурных) в печени в результате применения у одного больного различных методов оценки биоптата в динамике ИФТ, позволивший уточнить патоиммуноморфогенез и прогнозировать исходы ХГС после ИФТ;
- определены дополнительные ультраструктурные признаки, отражающие клинически значимые механизмы повреждения гепатоцитов;
- установлены ультраструктурные и цитологические изменения, характеризующие незавершенность патологического процесса в печени у больных ХГС с наличием полного ответа на ИФТ;
- установлены причины развития рецидивов, в основе которых находятся различные механизмы повреждения гепатоцитов (иммуноопосредованный эффект цитотоксическими лимфоцитами (ЦТЛ), снижение регенераторной активности гепатоцитов).

### ***Практическая значимость работы и полученных результатов***

Доказано преимущество и необходимость применения комплексного метода морфологической диагностики ХГС, позволяющего объективно оценивать динамику (завершенность) патологического процесса в печени у больных, длительно получающих препараты интерферона.

Доказано, что ИФТ ХГС (монотерапия, 9–12 мес.) не приводит к завершению патологического процесса в печени, что является одной из причин рецидива болезни.

Разработан способ прогноза стойкой ремиссии и развития рецидивов при ХГС, позволяющий сократить экономические затраты на лечение и обеспечить более высокое качество жизни больных ХГС.

Разработаны схемы противорецидивной терапии больных ХГС препаратами урсодезоксихолевой кислоты (УДХК) и иммуномодуляторами.

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

1. Оценка ультраструктурной реорганизации печени при ХГС позволяет выявить комплекс характерных изменений, вызванных воздействием РНК-геномного HCV, определить ультраструктурные критерии для прогноза исходов ХГС после ИФТ, дополнить результаты традиционной морфологической диагностики.

2. Длительная ИФТ (монотерапия, 9-12 мес.) у большинства больных ХГС не приводит к завершению патологического процесса в печени, несмотря на

достижение полного ответа (ПО).

3. Показатели количества цитотоксических лимфоцитов во внутريدольковом инфильтрате больных ХГС в динамике ИФТ могут быть использованы в качестве дополнительных морфологических критериев прогноза стойкой ремиссии и рецидивов.

4. Назначение препаратов УДХК в комбинации с ИФТ, с момента достижения ПО, снижает частоту рецидивов у больных ХГС. Применение иммуномодулятора амиксина в терапии ХГС более обоснованно у больных с отсутствием ответа на ИФТ в комбинации с ИФТ при недостаточной ее эффективности.

#### ***Личный вклад соискателя***

Научным руководителем предложена тема диссертации и ее методическое решение. Подбор и клиническое обследование больных, анализ историй болезни, контроль результатов ИФТ выполнялись непосредственно диссертантом. Анализ окончательных данных проводился совместно с руководителем. Статистическая и графическая обработка полученных данных, иллюстративный материал, а также написание диссертации проведены автором самостоятельно.

#### ***Апробация результатов диссертации***

Результаты и основные положения диссертации представлены в виде устных и стендовых сообщений и обсуждены на заседаниях кафедры инфекционных болезней (Гродно, 2004, 2005, 2006); на V, VI международных симпозиумах гепатологов Республики Беларусь (Гродно, Минск, 2002, 2004); V съезде инфекционистов Республики Беларусь (Минск, 2003); областных семинарах инфекционистов (Гродно, 2003, 2005, 2006); международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы инфекционной патологии» (Ташкент, 2005); на итоговой научной сессии ЦНИЛ Гродненского медицинского университета (Гродно, 2005).

#### ***Опубликованность результатов***

По материалам диссертации опубликовано 18 научных работ, из них 4 статьи в рецензируемых журналах (1 в РФ), 2 статьи в сборниках работ и 12 тезисов. Утверждена 1 инструкция Минздрава Республики Беларусь. Общий объем публикаций составляет 49 стр.

#### ***Структура и объём диссертации***

Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, 5 глав основной части, заключения, выводов, списка использованных источников литературы и приложения. Полный объём диссертации составляет 121 страницу машинописного текста, в котором содержится 38 таблиц, 13 рисунков, включая 7 фотографий. Библиография включает 210 наименований работ (91 русскоязычная и 119 иностранных авторов), занимающих 17 страниц.



## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

### *Материалы и методы исследования*

Под наблюдением находилось 105 больных ХГС, поступавших в Гродненскую областную инфекционную клиническую больницу (республиканский гепатологический центр) в период с 2001 по 2005 год. Возрастной и половой состав больных представлен в табл. 1.

Таблица 1

#### **Распределение наблюдаемых больных ТПИ по полу и возрасту**

<i>Показатели</i>	<i>Значение абс./ (%), n=105</i>
Средний возраст, годы	27,19±0,79
Мужчины	85 (80,9±3,82 %)
Женщины	20 (19,1±3,82 %)

Наиболее частой причиной инфицирования HCV были оперативные вмешательства (33,3%), татуировки (10,5%), переливания крови (9,5%), реже - половые контакты (7,6). У 36,2% не было указаний на возможный путь инфицирования. Лица с наркозависимостью и невирусными поражениями печени не наблюдались. Средняя продолжительность болезни составила 7,38±0,21 лет. Клинические проявления ХГС у наблюдаемых больных были минимальны, характеризовались диспепсическим и астеническим синдромами, что согласовалось с ранее полученными в нашей клинике результатами данными других авторов (Матиевская Н.В., 2004; Оскирко А.Н., 2005).

1. Вирусологический контроль. Этиологическая верификация ХГС проведена исследованием крови на anti-HCV с помощью ИФА (“Abbott”, “Sanofi-Paster”, Organon Teknika, Boxtel, the Netherlands, НПО “Диагностические системы” г. Н. Новгород), РНК HCV с помощью ПЦР (ROCHE Amplicor Monitor 2.0, Basel, Switzerland, “Hofman-la-Roche” и НПО “ЛИТЕКС”). Выборочно проведено определение генотипа HCV, установлено преобладание 1b генотипа HCV. Полуколичественная оценка вирусной нагрузки оценивалась по величине титров РНК HCV в ПЦР. Результаты характера вирусологического ответа (ВО) на ИФТ оценивались как : наличие вирусологического ответа (ВО+) – элиминация РНК HCV из крови и отсутствие вирусологического ответа (ВО-) – сохранение или увеличение титров РНК HCV. У большинства больных (свыше 60%) средняя концентрационная вирусная нагрузка соответствовала титрам от  $10^{-3}$  до  $10^{-4}$ .

2. Биохимический контроль. Характер биохимического ответа (БО) оценивался по активности АлАТ, так как у всех наблюдаемых больных показатели билирубина, общего белка, альбумина, протромбинового индекса соответствовали пределам нормы. Нормальные показатели АлАТ были у 8,6% больных, у большинства показатель АлАТ был умеренно повышенным (75,2%) и лишь у 16,2% активность АлАТ превышала уровень в 4 ммоль/ч.л.

3. Морфологический контроль. Было выполнено 105 пункционных биопсий, 31 - повторно, 6 больным - 3 раза в динамике терапии. Морфологическое исследование биоптата у одного больного проводилось одновременного всеми приведенными ниже морфологическими методами в



динамике ИФТ. Ограниченное число больных в некоторых группах, определялось обстоятельствами, среди которых морально-психологические аспекты были определяющими. Все биопсии выполнены при отсутствии противопоказаний и письменном согласии больных. Осложнений во время и после выполнения процедуры не отмечено ни у одного больного.

Для световой микроскопии образцы фиксировали в 10% растворе формалина. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином и по Ван-Гизону. Морфологическое изучение биоптатов печени проводили в сочетании с определением гистологического индекса степени активности (ГИСА, Серов В.В., Севергина Л.О., 1996). В качестве контроля были биоптаты печени здоровых лиц, направленных военкоматами для исключения патологии печени.

Установлено, что у наблюдаемых больных до начала ИФТ слабая степень активности (ГИСА до 18 баллов) отмечена у 76%, умеренная (19-40 баллов) – у 22%, выраженная (43 балла) – у 2%. Данные о частоте и характере морфологических изменений в печени представлены в табл. 2.

Таблица 2

### **Частота и характер морфологических изменений в печени больных ХГС**

<i>Морфологические показатели</i>	<i>ГИСА, баллы</i>	<i>%</i>
Перипортальные изменения	до 8	26
Внутридольковые изменения	до 4	19
Лимфоидная инфильтрация в портальных трактах	до 6	50
Жировая дистрофия	до 6	48
Лимфоидные фолликулы	до 5	6
Поражение желчных протоков	до 4	17
ГИСА, средний показатель	13,9±1,20	
ГИСХ, средний показатель	1,4±0,18	

О стадии ХГС судили по гистологическому индексу стадии хронизации (ГИСХ, Серов В.В., Севергина Л.О. и др., 1996). ГИСХ оценивали в баллах: 1–4 балла – слабый фиброз (I стадия хронизации) – 98,1% больных; 5-8 баллов – умеренный фиброз (II стадия) – 1,9% больных; 9–12 баллов – тяжелый фиброз (III стадия) – 0% больных; 13–16 баллов – цирроз (IV стадия) – 0% больных.

4. Электронномикроскопический контроль. Биоптаты печени фиксировали 1% раствором четырехокси осмия на 0,1 М буфере Миллонига, рН 7,4 при +40С в течение 2 час. После дегидратации в спиртах восходящей концентрации и ацетоне образцы заливали в смесь эпон–аралдит. Из блоков на ультрамикротоме MT-7000 ULTRA (USA) готовили полутонкие срезы, которые окрашивали метиленовым синим. Препараты вначале изучали в световом микроскопе, выбирая участок для дальнейшего изучения ультраструктуры (для соблюдения стандартности при окончательной заточке образца печени отбирали однотипные участки печеночной дольки). Затем изготавливали ультратонкие срезы и контрастировали их 2% раствором уранилацетата на 50% метаноле и цитратом свинца по E.S. Reynolds. Препараты изучали в электронных микроскопах ПЭМ-100 (при увеличениях x

6000–14000) и JEM-100 CX (при увеличении 7000-36000).

Оценивались следующие изменения в гепатоцитах и органеллах: наружная мембрана гепатоцитов, ядро, ядрышко, митохондрии, гранулярная эндоплазматическая сеть (ГрЭС), гладкая эндоплазматическая сеть (ГлЭС), комплекс Гольджи, состояние пространства Диссе, синусоидов и желчных протоков, содержимое синусоидов, клетки Купфера, липоциты, различные виды дистрофий, фиброобразование. Консультации по интерпретации полученных результатов проведены со специалистами в области электронной микроскопии НИИ физиологии НАН и БелНИИЭМ Минздрава РБ.

5. Цитологический контроль проведен для оценки состава внутريدолькового инфильтрата (расчет на 100 профилей синусоидов), а также функциональной и регенераторной способности гепатоцитов. Использованы полутонкие срезы (толщиной 0,5 мкм). В качестве фиксаторов применялись гематоксилин-эозин и основной фуксин. Оценивали количество цитотоксических лимфоцитов (ЦТЛ), показатели митозов.

6. Морфометрический контроль проведен на компьютерном анализаторе изображений “Биоскан NT”. В каждом наблюдении исследовалось не менее 100 ядер в различных полях зрения. Автоматически рассчитывались параметры: площадь, длина и ширина ядра и объем - наиболее информативный показатель количественной оценки внутриклеточной регенерации (К. Ташкэ, 1980).

7. Статистический - для обработки исследуемых показателей применяли описательную статистику, а для оценки различий средних в полученных выборках — t-критерий Стьюдента (для связанных и несвязанных выборок по различным приложениям) с поправкой на малые выборки по статистическим программам для медико-биологических исследований из пакета BMDP и STATISTICA для Windows 95 на персональной ЭВМ IBM-AT-486. Для определения средней ошибки процентной частоты (m) использован прием И.А. Ойвина.

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### *Особенности ультраструктурных изменений биоптата печени при ХГС*

Результаты исследования показали, что у больных ХГС была четкая констатация гетерогенности гепатоцитов (61,5%), проявившаяся как по плотности цитоплазматического матрикса так и по состоянию цитоплазматических органелл разной степени выраженности: в 11,5% случаев - слабо выраженная, в 34,6% - умеренно выраженная, в 15,4% - выраженная. Ядра гепатоцитов характеризовались преимущественно овальной формой, с мелкозернистым хроматином, неравномерно распределенным в кариоплазме. В ядре визуализировалось крупное (64,3%) или компактное (35,7%) ядрышко, чаще располагающееся эксцентрично (63,6% и 60% соответственно). У половины больных в ядрах был одинаково развит как гранулярный, так и фибриллярный компонент, у 42,9% - преимущественно гранулярный, у 7,1% - фибриллярный компонент. Гранулярная эндоплазматическая сеть (ГрЭС) в цитоплазме большинства гепатоцитов была развита умеренно (57,1%) или

слабо (42,9%), содержала на цистернах умеренное количество связанных рибосом. В 28,6% в гепатоцитах сохранялся внутриклеточный регенераторный потенциал в виде сильно развитой ГрЭС и многочисленных митохондрий. Комплекс Гольджи был развит слабо или умеренно, в большинстве гепатоцитов его структуры, особенно цистерны, были расширенными. Гладкая эндоплазматическая сеть (ГлЭС) чаще была развита сильно (42,9%). Вместе с тем, наблюдались гепатоциты с умеренно (28,6%) и слабо развитой (28,6%) ГлЭС.

Важным фактом было выявление связанных с мембранными структурами вирусоподобных частиц (НСV?) диаметром около 50 нм, умеренной электронной плотности. Митохондрии, чаще визуализировались в умеренном количестве (57,1%), либо были многочисленными (35,7%), отмечался их умеренно (50%) или слабо выраженный (35,7%) полиморфизм. В отдельных гепатоцитах (14,3%) полиморфизм был отчетливо выражен. Редукция крист была выражена незначительно (50%) или умеренно (14,3%). Матрикс митохондрий в 92,9% случаев имел умеренную электронную плотность. В 100% случаев обнаруживались гепатоциты в состоянии жировой дистрофии разной степени выраженности. В 28,6% наблюдались единичные жировые капли. Регистрировались гепатоциты со слабо- (35,7%), умеренно- (28,6%) и выраженным (7,1%) признаком. В большинстве случаев выявлялась крупно- (42,9%) и мелкокапельная (28,6%) диссеминированная дистрофия, нередко - очаговая (14,3%) с наличием капель мелких, средних и крупных размеров.

К ультраструктурным особенностям жировой дистрофии нами отнесена деструкция жировых капель с дезорганизацией их структуры и формированием электронно-плотной субстанции вокруг липидных капель, напоминая материал базальных мембран. Наблюдались изменения гепатоцитов, характеризующиеся частичной «опустошенностью» цитоплазмы, снижением содержания гликогена, при этом клетки имели неизменные ядра (64,3% случаев). «Опустошенность» цитоплазмы имела в 28,6% значительную, в 14,3% - умеренную, в 21,4% - слабую степень выраженности. В гепатоцитах выявлялись резидуальные тельца: в 50% случаев немногочисленные, в 28,6% - в умеренном количестве. Параллельно в цитоплазме выявлялись структуры, содержащие электронно-плотные участки и липидные глобулы (чаще немногочисленные и в умеренном количестве - 14,3%, реже - многочисленные 7,1%).

В 85,7% наблюдалась различной выраженности «закупорка» синусоидов клеточным детритом, представленным целыми фрагментами цитоплазмы с митохондриями, мембранами цитоплазматической сети, вакуолями, между которыми различались эритроциты, лимфоциты, гранулярные лейкоциты. Достаточно часто обнаруживались вакуоли различных размеров с мелкозернистым содержимым, которые, вероятно, были результатом микроклизматоза (аутоампутации) набухших микроворсинок, часто встречались звездчатые клетки Купфера с признаками функциональной активности. В 86,7% в перикапиллярном пространстве выявлялись липоциты (клетки Ито), чаще в умеренном (42,9%) или небольшом (28,6%) количестве. Нередко выявлялись

начальные стадии фиброзообразования в виде гиперплазии пучков коллагеновых волокон в перисинусоидальном и в межклеточных пространствах (71,4%), сопровождаемые увеличением количества липоцитов.

Проведенные исследования ультраструктуры гепатоцитов при ХГС показали, что воздействие РНК-геномного HCV вызывает в клетках печени комплекс стереотипных изменений, независимо от активности и стадии процесса. Выявленные изменения ультраструктуры гепатоцитов при ХГС были более информативны, чем данные световой микроскопии, так как они точнее отражали изменения органелл гепатоцитов функционально и структурно ответственных за внутриклеточный метаболизм, рецепторные взаимоотношения между гепатоцитом, его органеллами и возбудителем.

В связи с этим, открывалась перспектива реализовать поставленные в работе задачи и осуществить контроль за наиболее характерными изменениями в гепатоцитах при разных вариантах ответа на ИФТ, а также использовать данные показатели в качестве предикторов развития рецидива или стойкой ремиссии. С другой стороны, наличие связанных с мембранными структурами вирусоподобных частиц, диаметром около 50 нм, может быть использовано в качестве критерия «санации» гепатоцитов от возбудителя в динамике ИФТ.

#### ***Влияние рекомбинантного альфа-2 интерферона на активацию лимфоцитов крови *in vitro****

Объектом исследования были лимфоциты периферической крови женщин репродуктивного возраста и пуповинной крови новорожденных детей, которые выделяли центрифугированием на одноступенчатом градиенте фикол-верографин плотностью 1,077 г/см<sup>3</sup>. Лимфоциты инкубировали в круглодонных иммунологических 96-луночных планшетах с различными концентрациями реалдирона (75,104 МЕ/мл, 75,103 МЕ/мл, 75,102 МЕ/мл). Ставили реакцию фенотипирования лимфоцитов (CD4, CD95) по Д.К. Новикову. Анализ нагрузочного теста *in vitro* с ИФН при идентификации мембранных маркеров выявил дозозависимый эффект – с уменьшением концентрации возрастало (на 33%  $p < 0,05$ ) содержание лимфоцитов периферической крови, обладающих хелперно-индукторными свойствами (CD4) по сравнению с контрольными значениями. Параллельно наблюдали увеличение CD95 лимфоцитов (Fas-апоптоз) на 31% ( $p < 0,05$ ). При исследовании лимфоцитов пуповинной крови отмечали более выраженный эффект. Все дозы, выбранные для изучения оказали стимулирующий эффект на уровень лимфоцитов, экспрессирующих CD95. Таким образом, альфа-2 интерферон в тестах *in vitro* активировал лимфоциты, способствуя повышению количества Т-хелперов. Параллельно возрастал ( $p < 0,05$ ) уровень лимфоцитов, экспрессирующих CD95 (Fas).

#### ***Влияние ИФТ на изменение ультраструктуры гепатоцитов больных ХГС***

С этой целью была проведена оценка изменений ультраструктуры гепатоцитов в 2 группах больных ХГС в динамике ИФТ в зависимости от окончательного ответа на ИФТ: полный ответ (ПО) – нормализация АлАТ при

биохимическом исследовании, отсутствие РНК HCV в крови по данным ПЦР и отсутствие ответа (ОО) – сохранение повышенного уровня АлАТ и РНК HCV после курса ИФТ. Данные о характере и частоте изменений ультраструктуры печени представлены в табл. 3.

Таблица 3

**Частота встречаемости и характер ультраструктурных изменений гепатоцитов у больных ХГС в динамике ИФТ (средние величины,  $M \pm m$ )**

Показатели	ПО, частота (%)		ОО, частота (%)	
	до ИФТ (n=10)	после ИФТ (n=10)	до ИФТ (n=15)	после ИФТ (n=15)
Гетерогенность гепатоцитов	80,0±17,89	42,9±18,70	55,6±16,56	44,4±16,56
Жировая дистрофия	100,0±0,00	71,4±13,23	100,0±0,00	100,0±0,00
Окаймление липидных капель	40,0±21,91	28,6±17,07	33,3±15,71	44,4±16,56
«Опустошенность» цитоплазмы	40,0±21,91	42,9±18,70	77,8±13,86	66,7±15,71
Резидуальные тельца	80,0±17,89	42,9±18,70	80,0±17,89	88,9±10,48
Структуры, содержащие эл.- плотные уч-ки и липидные глобулы	40,0±21,91	71,4±17,07	33,3±15,71	77,8±13,86
Закупорка синусоидов	60,0±21,91	71,4±17,07	100,0±0,00	100,0±0,00
Гиперплаз. коллаг. волокон в перикап. пространстве	60,0±21,91	42,9±18,70	44,4±16,56	44,4±16,56
Активные липоциты	60,0±21,91	57,1±18,70	44,4±16,56	66,7±15,71

Как видно из табл. 3, показатели больных с ПО и ОО на ИФТ отличались, что свидетельствовало о неоднозначности влияния ИФТ на печень у больных ХГС и о важности электронно-микроскопического метода для оценки завершенности патологического процесса в динамике терапии. Установлено, что в группе больных с наличием ПО после курса ИФТ отмечено снижение белково-синтетических (регенераторных) процессов в гепатоцитах (уменьшение гетерогенности гепатоцитов, очагов регенерации, снижение развития ГрЭС, увеличение «опустошенности» цитоплазмы), а также уменьшение жировой дистрофии и окаймления липидных капель, численности и активности митохондрий, увеличение «закупорки» синусоидов, сохранение количества липоцитов и увеличение количества коллагеновых волокон, уменьшение численности митотически активных гепатоцитов (данные световой микроскопии) и уменьшение объема ядер при морфометрическом исследовании биоптата.

У больных ХГС при ОО на ИФТ, в меньшей степени, чем в группе ПО, снижалась гетерогенность гепатоцитов, увеличивалось число очагов регенерации, увеличивалось развитие ГрЭС, уменьшалась «опустошенность» цитоплазмы, сохранялась выраженность жировой дистрофии, увеличивалось окаймление липидных капель, уменьшалось число и увеличивалась активность митохондрий, увеличивалось количество вторичных образований в цитоплазме, нарастала «закупорка» синусоидов, увеличивалось количество липоцитов (в т.ч. активных) и коллагеновых волокон; уменьшалась численность митотически

активных гепатоцитов, увеличивался объем их ядер.

### ***Влияние ИФТ на цитотоксические лимфоциты во внутридольковом инфильтрате***

Изучение количества ЦТЛ в синусоидах было продиктовано необходимостью уточнения патоиммуноморфогенеза ХГС. Использование дополнительных методов фиксации и окраски препаратов позволило получить данные об особенностях морфогенеза. Впервые при ХГС были получены препараты, в которых зафиксированы все стадии иммуноопосредованного повреждения гепатоцитов ЦТЛ: периполез, инвагинация и эмпериполез. Показатель ЦТЛ во внутридольковых инфильтратах рассчитывался на 100 профилей синусоидов. Анализ проводился с учетом характера ответа на ИФТ (3 группы): ПО, ОО, рецидив - в течение года после отмены ИФТ повышение АлАТ и выявление в крови РНК HCV. Результаты количества ЦТЛ в синусоидах у больных ХГС представлены в табл. 4.

Как видно из табл. 4, количество ЦТЛ во внутридольковых инфильтратах после ИФТ различалось, несмотря на снижение показателя ГИСА. Исходя из полученных результатов был предложен способ прогноза стойкой ремиссии и рецидивов при ХГС при достижении ПО на ИФТ (заявка на изобретение № а 2006003, дата подачи 03.01.2006 г., приоритетная справка от 10.03.2006 г.).

Таблица 4

#### **Показатели количества ЦТЛ в синусоидах у больных ХГС в зависимости от характера ответа на ИФТ**

<i>Группы</i>	<i>Кол-во больных</i>	<i>ЦТЛ, до лечения</i>	<i>ЦТЛ, после лечения</i>	<i>ГисА (баллы) после лечения</i>
ОО	n=6	24,3±4,48	6,8±4,59*	1,7±0,23
ПО	n=7	31,9±1,08	1,5±0,99*	4,2±2,59
Рецидив	n=7	28,0±2,06	61,1±9,90*	2,3±1,40

**Примечание:** \* - достоверные различия в группах ( $P < 0,05$ )

Показано, что при снижении/наличии показателей ГИСА до 4 и более баллов и отсутствии ЦТЛ в синусоидах после ИФТ прогнозируется стойкая ремиссия, а при сохранении/наличии ЦТЛ в синусоидах 30 и более, несмотря на возможное снижение показателей ГИСА, прогнозируется рецидив.

### ***Влияние ИФТ на показатели регенерации***

Учитывая, что в условиях патологии регенерация печени осуществляется посредством клеточной и внутриклеточной пролиферации, в работе были проанализированы цитологические показатели, оцениваемые по количеству гепатоцитов с митотически измененными ядрами и по количеству двуядерных клеток до и после ИФТ.

Установлено, что при ХГС митозы практически не наблюдались. В биоптатах печени до ИФТ наблюдались двуядерные гепатоциты. Подсчитывалось количество двуядерных клеток в зависимости от конечного результата на ИФТ. Данные представлены в табл. 5.

Таблица 5

**Показатели количества двуядерных гепатоцитов у больных ХГС  
в зависимости от характера ответа на ИФТ (среднее значение,  $M \pm m$ )**

<i>Группы</i>	<i>Частота признака до ИФТ</i>	<i>Частота признака после ИФТ</i>
ОО, n=9	2,2±0,54	1,9±0,58
ПО, n=11	5,7±0,57*	2,9±0,47

**Примечание:** \* - достоверность результатов между группами ПО и ОО до начала ИФТ ( $p < 0,05$ )

Как видно из табл. 5, в группе ПО исходный показатель двуядерности гепатоцитов был выше, чем в группе ОО, что свидетельствовало о более высоком внутриклеточном регенераторном потенциале гепатоцитов в этой группе. Это представлялось важным для прогноза эффективности ИФТ до ее начала, так как после ИФТ количество двуядерных клеток в группах снизилось незначительно ( $P > 0,05$ ).

В дальнейшем для количественной оценки внутриклеточной регенерации определялся объем ядер. Морфометрия производилась с помощью компьютерного анализатора изображений «Биоскан NT». В каждом наблюдении исследовалось не менее 100 ядер в различных полях зрения. Для собственных статистических расчетов брались только средние значения изучаемых показателей. Показатель анализировался в динамике ИФТ в зависимости от конечного ответа на лечение. Показатели объема ядер в процессе ИФТ отражены в табл. 6.

Таблица 6

**Показатели объема ядер в процессе ИФТ ( $\text{мкм}^3$ )**

<i>Группы</i>	<i>V ядер до лечения</i>	<i>V ядер после лечения</i>
ОО, n=9	116,9±7,45	121,2±9,95
ПО, n=11	112,3±10,69	107,9±10,01
Рецидив, n=5	111,6±8,81	75,4±6,90 *

**Примечание:** \* - достоверные различия в группах ( $P < 0,05$ )

Как видно из табл. 6, в группе ОО наблюдалось увеличение объема ядер на 3,7% ( $P > 0,05$ ); в группе ПО - уменьшение на 3,9% ( $P > 0,05$ ); в группе рецидива ХГС - уменьшение объема ядер на 32,5% ( $P < 0,05$ ).

Таким образом, морфометрический контроль позволил прогнозировать стойкую ремиссию и рецидив после ИФТ. У больных с ОО на ИФТ имелась тенденция к сохранению или незначительному увеличению объема ядер по сравнению с исходными показателями. Это позволило заключить, что при уменьшении объема ядер более чем на 32% от исходного уровня можно прогнозировать развитие рецидива ХГС. Несовпадение традиционных показателей активности процесса в печени с данными объема ядер показало, что ГИСА не отражал изменения белково-синтетической и регенераторной способности гепатоцитов при ХГС.

Комплексная морфологическая диагностика позволила выявить наиболее

характерные морфологические изменения в печени и уточнить патоиммуноморфогенез ХГС, при котором, по нашему мнению, одним из механизмов повреждения гепатоцитов и причиной развития рецидивов, вероятно, является индукция механизмов апоптоза гепатоцитов. На это же указывают результаты изучения патогенеза ХГС в последние годы (Буеверов А.О., 1998; Семенов Т.А., 2006).

### ***Обоснование противорецидивной терапии больных ХГС***

Выбор известных для лечения препаратов УДХК и амиксина основывался не столько на их фармакологических характеристиках (УДХК - антихолестатическое средство, амиксин - стимулятор эндогенного интерферона), сколько на результатах низкой эффективности этих препаратов, назначаемых в виде стартовой схемы лечения больных ХГС (монотерапия). С другой стороны, наши исследования не выявили выраженных признаков холестаза в динамике ИФТ, что определило интерес в уточнении предполагаемых механизмов противорецидивного действия.

Для апробации схемы лечения препаратом УДХК обследовано 20 больным ХГС. Все они получали ИФТ (интерферон альфа 2b, по 3 млн. ЕД в/м 3 раза в неделю) до получения ПО. Для оценки эффективности предложенной схемы, больные были разделены на 2 группы: 1 группа (14 больных) продолжали лечение по схеме моно-ИФТ еще в течение 6 месяцев, больным 2 группы (6 пациентов) дополнительно к ИФТ был назначен Урсофальк (500-750 мг 1 раз на ночь, в течение 6 месяцев). Результаты наблюдения показали, что в течение 12 мес. после отмены терапии у 7 больных (50%) 1 группы и у 6 больных (100%) 2 группы отмечался длительный ответ на лечение. В дальнейшем, в 1 группе у 7 больных (50%) после отмены ИФТ развился рецидив ХГС: увеличение АлАТ, выявление РНК HCV, во 2 группе рецидив не зафиксирован ни у одного больного.

Таким образом, терапия УДХК патогенетически более оправдана не в виде стартовой схемы лечения, а в виде комбинированной (антирецидивной) с момента достижения ПО на моно-ИФТ. Предложенная схема лечения имеет преимущества перед моно-ИФТ и выражается в наличии положительного отдаленного результата в виде сохранения длительной ремиссии и отсутствия рецидивов.

Препарат «Амиксин» назначался больным по общепринятой схеме: 125 мг в день – 1 и 2 день, затем по 125 мг через 48 ч в течение 35 дней и по 125 мг 1 раз в неделю в течение 30 дней (курсовая доза 3,75 г, курс - 3,5 мес.). Все больные были разделены на две группы: 1 группа (11 больных) – монотерапия амиксином - больные, которые ранее получали ИФТ без эффекта; 2 группа – комбинированная терапия (14 больных) - больные, которым амиксин назначался дополнительно к ИФТ в случае неэффективности последней в течение первых 3 месяцев.

В 1 группе ПО на проведенную терапию не был достигнут ни у одного больного. У 7 пациентов с исходной умеренной (5 больных) и низкой (2 больных) активностью процесса наблюдалась нормализация активности АлАТ при сохранении РНК HCV в крови по данным ПЦР – частичный ответ



(ЧО). ОО зарегистрировано у 4 пациентов с исходной умеренной (2 больных) и высокой (2 больных) активностью АлАТ. Во 2 группе ПО достигнут у 3 больных с исходным уровнем АлАТ соответствующим низкой и умеренной активности процесса. ЧО – у 8 больных с показателями АлАТ соответствующими нормальной и низкой активности. ОО наблюдалось у 3 больных с нормальной, низкой и умеренной активностью процесса.

Результаты изучения эффективности препарата «Амиксин» (АМ) в лечении 2 групп больных ХГС позволили заключить, что назначение препарата является клинически более обоснованным в составе комбинированной терапии (ИНФ+АМ) при отсутствии эффекта на монотерапию ИФН в течение 3 мес. Кроме того, эта схема лечения в современный период оправдана с клинической и экономической точек зрения, так как более доступна различным социальным категориям больных.

### ***На основании полученных результатов исследований и заключения сделаны следующие выводы***

1. Характерными признаками ультраструктурной реорганизации паренхиматозного и стромального компартментов печени, возникающими в результате воздействия РНК-геномного HCV, которые могут быть использованы в качестве критериев прогноза исходов ХГС после ИФТ (ремиссия, рецидив), являются: гетерогенность гепатоцитов ( $61,5 \pm 13,00\%$ ); жировая дистрофия разной степени выраженности ( $100,0 \pm 0,00\%$ ) с ранней деструкцией липидных капель и формированием соединительно-тканного матрикса по периферии ( $42,9 \pm 13,23\%$ ); преобладание гепатоцитов с локальной «опустошенностью» цитоплазмы ( $64,3 \pm 12,81\%$ ) и наличием в ней вторичных образований в виде резидуальных телец ( $78,6 \pm 10,97\%$ ) и структур, содержащих электронно-плотные участки и липидные глобулы ( $35,7 \pm 12,81\%$ ); «закупорка» синусоидов ( $86,7 \pm 9,35\%$ ); гиперплазия пучков коллагеновых волокон в перикапиллярном пространстве ( $71,4 \pm 12,07\%$ ); наличие липоцитов ( $85,7 \pm 9,35\%$ ), клеток-продуцентов фибрилл коллагеновых волокон; выявление в цитоплазме связанных с мембранными структурами вирусоподобных частиц (HCV?), диаметром около 50 нм, умеренной электронной плотности [1,2,4,5,8,9,12,14].

2. У больных ХГС после получения ПО на ИФТ сохраняются признаки незавершенности патологического процесса в печени в виде изменений ультраструктуры гепатоцитов: гетерогенность гепатоцитов ( $42,9 \pm 18,70\%$ ), жировая дистрофия разной степени выраженности ( $71,4 \pm 13,23\%$ ) с формированием материала повышенной электронной плотности по периферии липидных капель ( $28,6 \pm 17,07\%$ ), «опустошенность» цитоплазмы ( $42,9 \pm 18,70\%$ ), наличие вторичных образований в цитоплазме (резидуальные тельца –  $42,9 \pm 18,70\%$ , структуры, содержащие электронно-плотные участки и липидные глобулы  $71,4 \pm 17,07\%$ ), «закупорка» синусоидов ( $71,4 \pm 17,07\%$ ), гиперплазия пучков коллагеновых волокон в перикапиллярных пространствах в умеренном и большом количестве ( $42,9 \pm 18,70\%$ ), наличие активных липоцитов ( $57,1 \pm 18,70\%$ ) и вирусоподобных частиц диаметром около 50 нм, что требует коррекции дальнейшей терапии больных ХГС [10,15].

3. Одной из причин развития рецидивов после ИФТ является сохранение иммуноопосредованного механизма повреждения гепатоцитов за счет ЦТЛ и подавление процессов регенерации. Показатель количества ЦТЛ во внутريدольковом инфильтрате (расчет на 100 профилей синусоидов) у больных ХГС с наличием ПО на ИФТ может быть критерием прогноза стойкой ремиссии и рецидива. При снижении/наличии показателей ГИСА до 4 и более баллов и отсутствии ЦТЛ в синусоидах печени после ИФТ прогнозируют стойкую ремиссию, а при сохранении/наличии ЦТЛ в синусоидах до 30 и более ( $p < 0,05$ ) и уменьшении объема ядер гепатоцитов (свыше 32,5%,  $p < 0,05$ ), несмотря на снижение показателя ГИСА, прогнозируют развитие рецидива [6,7].

4. Назначение больным ХГС препарата УДХК в комбинации с ИФТ (ИФН-альфа2) через 6 мес. с момента достижения ПО по схеме: 250 мг/кг массы тела 1 раз в сутки, на ночь, продолжительностью 6 мес., имеет преимущества перед моно-ИФТ, так как увеличивает частоту длительной ремиссии, снижает частоту развития рецидивов за счет устранения ЦТЛ во внутريدольковых инфильтратах [4, 17].

5. Назначение больным ХГС препарата «Амиксин» показано при отсутствии эффекта на моно-ИФТ в течение первых 3 месяцев, рекомендовано в составе комбинированной терапии (интерферон+амиксин) по схеме: 125 мг в день – 1 и 2 день, затем по 125 мг через 48 ч в течение 35 дней и по 125 мг 1 раз в неделю в течение 30 дней (курсовая доза 3,75 г, продолжительность - 3,5 мес.), приводит к ПО у 21,4%, ЧО у 57,1% больных, что является обоснованным с экономической, социальной и клинической точек зрения [3, 11, 13, 16].

#### ***Рекомендации по использованию полученных научных результатов***

Результаты диссертации могут быть использованы в практическом здравоохранении в виде следующих методов:

- способ прогнозирования стойкой ремиссии и рецидивов ХГС: при снижении/наличии показателей ГИСА до 4 и более баллов и отсутствии ЦТЛ в синусоидах печени после ИФТ прогнозируется стойкая ремиссия, а при сохранении/наличии ЦТЛ в синусоидах до 30 и более, несмотря на снижение показателя ГИСА, прогнозируют развитие рецидива;

- способ комбинированной терапии ХГС препаратами ИФН и УДХК: УДХК назначается в комбинации с ИФН-альфа2 через 6 мес. с момента достижения ПО по схеме: 250 мг/кг массы тела 1 раз в сутки, на ночь, продолжительностью 6 мес.;

- способ комбинированной терапии ХГС препаратами ИФН и амиксином: амиксин назначается при отсутствии эффекта на моно-ИФТ в течение первых 3 месяцев в составе комбинированной терапии (ИФН-альфа2 +амиксин) по схеме: 125 мг в день – 1 и 2 день, затем, по 125 мг через 48 ч в течение 35 дней и по 125 мг 1 раз в неделю в течение 30 дней (курсовая доза 3,75 г, продолжительность - 3,5 мес.).

## СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи в журналах

1. Лукашик С.П., Кравчук Р.И., Цыркунов В.М., Шейбак В.М., Прокопчик Н.И., Полещук Н.Н. Клинический анализ изменений ультраструктуры гепатоцитов больных хроническим гепатитом С // Инфекционные болезни. – 2005. – т. 3. – № 2. – С. 18-21.
2. Лукашик С.П., Кравчук Р.И., Цыркунов В.М., Шейбак В.М., Прокопчик Н.И., Полещук Н.Н. Клинический анализ изменений ультраструктуры гепатоцитов больных хроническим гепатитом С // Здоровоохранение. – 2006.– № 4. – С.4-8.
3. Цыркунов В.М., Лукашик С.П. Лечение больных хроническими вирусными гепатитами Амиксином // Медицинская панорама. – 2003. - №6 (31).– С.29-34.
4. Цыркунов В.М., Лукашик С.П., Андреев В.П., Прокопчик Н.И. Противорецидивная терапия хронического гепатита С с применением препарата Урсофальк // Рецепт. – 2005. - № 6 (44). – С. 30-33.

### Статьи в сборниках работ

5. Лукашик С.П. Изменения ультраструктуры гепатоцитов при хроническом гепатите С // Актуальные проблемы медицины. – Минск, 2005.– т. 2.– С. 163-166.
6. Цыркунов В.М., Матиевская Н.В., Прокопчик Н.И., Лукашик С.П. Сравнительная оценка морфологических показателей при верификации диагноза хронических гепатитов В и С // Мир вирусных гепатитов. – 2002. - № 10. – С. 6-10.

### Тезисы, материалы конференций

7. Андреев В.П., Лукашик С.П., Цыркунов В.М. Характер клеточной популяции печени // гепатит В, С, и D – проблемы диагностики, лечения и профилактики: тез. докл. науч. конф., москва, 3-5 июня 2003 / МЗ РФ, РАМН, коммерческое партнерство “Гепатитинфо”. – Москва, 2003. – С. 11-12.
8. Горецкая М.В., Мороз В.Л., Шейбак Л.Н., Лукашик С.П. Влияние альфа-интерферона на активацию лимфоцитов крови *in vitro* // Актуальные вопросы гепатологии: тез. докл. науч. конф., Минск, 22-23 апреля 2004. – Минск, 2004. – С. 40-41.
9. Кравчук Р.И., Лукашик С.П., Андреев В.П., Матиевская Н.В., Шейбак В.М., Цыркунов В.М. Сравнительная оценка активности АлАТ сыворотки крови и ультраструктурных изменений в гепатоцитах при вирусных поражениях печени // Актуальные вопросы гепатологии: тез. докл. науч. конф., Гродно, 25-26 сентября 2002. – Гродно, 2002. – С. 21.
10. Кравчук Р.И., Лукашик С.П., Цыркунов В.М., Шейбак В.М. Ультраструктурные изменения в печени на начальных стадиях хронической HCV-инфекции // Гепатит В, С, и D – проблемы диагностики, лечения и профилактики: тез. докл. науч. конф., Москва, 3-5 июня 2003 / МЗ РФ, РАМН, коммерческое партнерство “Гепатит-инфо”. – Москва, 2003. – С. 159-160.
11. Кравчук Р.И., Лукашик С.П., Андреев В.П., Шейбак В.М. Электронно-микроскопическая оценка эффективности альфа-интерферонотерапии хронического гепатита С // Актуальные вопросы гепатологии: тез. докл. науч. конф., Минск, 22-23 апреля 2004. – Минск, 2004. – С. 68-70.

12. Лукашик С.П. Амиксин – новые возможности индивидуальной иммунотерапии хронических форм HBV-, HCV- инфекции // Актуальные вопросы гепатологии: тез. докл. науч. конф., Гродно, 25-26 сентября 2002. – Гродно, 2002. – С. 128.
13. Лукашик С.П., Андреев В.П., Кравчук Р.И., Матиевская Н.В., Шейбак В.М., Цыркунов В.М. Патоморфология ткани печени у больных хроническим гепатитом с высокой активностью АлАТ крови // Актуальные вопросы гепатологии: тез. докл. науч. конф., Гродно, 25-26 сентября 2002. – Гродно, 2002. – С. 22.
14. Лукашик С.П., Цыркунов В.М. Амиксин – эффективное средство для лечения больных хроническими вирусными гепатитами // VI Российский съезд врачей-инфекционистов. С-Петербург. 29-31 октября 2003. – С-Петербург, 2003. – С. 214.
15. Матиевская Н.В., Лукашик С.П., Прокопчик Н.И., Цыркунов В.М. Сравнительная оценка морфологических показателей при хронических гепатитах В и С // Актуальные вопросы гепатологии: тез. докл. науч. конф., Гродно, 25-26 сентября 2002. – Гродно, 2002. – С. 25-26.
16. Матиевская Н.В., Лукашик С.П., Андреев В.П., Кравчук Р.И., Шейбак В.М., Цыркунов В.М. Патоморфологическая оценка эффективности лечения интерфероном больных хроническим гепатитом С // Актуальные вопросы гепатологии: тез. докл. науч. конф., Гродно, 25–26 сентября 2002. – Гродно, 2002. – С. 24.
17. Цыркунов В.М., Лукашик С.П. Иммунотерпия хронических вирусных гепатитов // Инфекционные болезни человека: матер. V съезда инф. РБ, Минск, 2003. – С. 346-348.
18. Цыркунов В.М., Лукашик С.П. Противорецидивная терапия урсофальком хронического гепатита С // Актуальные аспекты инфекционной патологии, посвящ. 95-летию акад. И. К. Мусабаева: сб. тез., Ташкент, сентябрь 2005. – Ташкент, 2005. – С. 105-106.

#### Инструкция к применению

Иммунотерапия больных вирусными гепатитами и порядок ее проведения в амбулаторно-поликлинических условиях: инструкция № 98-0702, утвержденная постановлением МЗ РБ от 28 ноября 2002 г. // Нац. реестр правовых актов РБ . – 2002.– 18 с.

#### Заявка на изобретение

«Способ прогноза рецидива хронического гепатита С после интерферонотерапии», № а 2006003, дата подачи 03.01.2006 г. Приоритетная справка от 10.03.2006 г.

#### Рационализаторские предложения

1. Лукашик С.П., Цыркунов В.М., Лис Р.Е., Степанов Т.К. «Способ прогнозирования стойкой ремиссии и рецидивов хронического гепатита С после интерферонотерапии». Удостоверение № 49 от 26.10.2005 г., выданное БРИЗ УЗ «Гродненская областная инфекционная клиническая больница».

2. Лукашик С.П., Цыркунов В.М., Андреев В.П., Черняк Л.К. «Способ комбинированной терапии хронического гепатита С». Удостоверение № 45 от

26.09.2005 г., выданное БРИЗ УЗ «Гродненская областная инфекционная клиническая больница».

3. Лукашик С.П., Цыркунов В.М., Богданович И.И. «Способ иммунотерапии больных хроническим гепатитом С». Удостоверение № 46 от 26.09.2005 г., выданное БРИЗ УЗ «Гродненская областная инфекционная клиническая больница».

## РЭЗІЮМЭ

Лукашык Святлана Пятроўна

### Клініка-марфалагічныя крытэрыі ацэнкі вынікаў тэрапіі і прагнозу рэцыдываў хранічнага гепатыту С

**Ключавыя словы:** хранічны гепатыт С (ХГС), патаімунамарфагенэз, інтэрферонатэрапія (ІФТ), рэцыдыў, прагноз.

**Аб’ект даследавання:** хворыя на ХГС, што атрымлівалі ІФТ, камбінаваную з урсафалькам і аміксінам.

**Мэта працы:** ацаніць дыягнастычнае і прагнастычнае значэнне комплекснага марфалагічнага даследавання біяптата вантробы хворых на ХГС у выпадку розных варыянтаў адказаў на ІФТ.

**Метады:** эпідэміялагічныя, клінічныя, лабараторныя, вірусалагічныя, марфалагічныя.

**Атрыманыя вынікі:** даказана перавага і неабходнасць прымянення комплекснага метаду марфалагічнай дыягностыкі ХГС, які дазваляе аб’ектыўна ацаніць дынаміку (завершанасць) паталагічнага працэсу ў вантробе хворых, што доўгачасова атрымліваюць прэпараты інтэрферона; даказана, што ІФТ ХГС (монатэрапія; 9-12 мес.) не прыводзіць да завяршэння паталагічнага працэсу ў вантробе, што з’яўляецца адной з прычынаў рэцыдыву хваробы; распрацаваны спосаб прагнозу стойкай рэмісіі і развіцця рэцыдываў пры ХГС, што дазваляе скараціць эканамічныя затраты на лячэнне і забеспячэнне больш высокай якасці жыцця ў хворых на ХГС; распрацаваны схемы супрацьрэцыдыўнай тэрапіі для хворых на ХГС прэпаратамі УДХК і імунамадулятарамі.

**Навуковая навізна:** упершыню выяўлены комплекс характэрных марфалагічных зменаў (гісталагічных, цыталагічных, марфалагічных, марфаметрычных, ультраструктурных) у вантробе ў выніку прымянення ў аднаго хворага разнастайных метадаў ацэнкі біяптату ў дынаміцы ІФТ, што дазволіла удакладніць патаімунамарфагенэз і прагназаваць зыход ХГС пасля ІФТ; устаноўлены дадатковыя ультраструктурныя прыкметы, што адлюстроўваюць клінічна важныя механізмы і стадыі пашкоджання гепатацытаў; устаноўлены ультраструктурныя і цыталагічныя змяненні, што характэрызуюць незавершанасць запаленчага працэсу ў вантробе хворых на ХГС пры наяўнасці поўнага адказу на ІФТ; устаноўлены прычыны развіцця рэцыдываў, у аснове якіх знаходзяцца розныя механізмы пашкоджання гепатацытаў (імунаапасрэдаваны эфект цытатаксічнымі лімфацытамі, зніжэнне рэгенераторнай актыўнасці гепатацытаў).

**Рэкамендацыі для выкарыстання.** Укараненне спосабу прагнозу рэцыдыва і новых схемаў супрацьрэцыдыўнай тэрапіі хворых на ХГС.

**Вобласць прымянення:** інфекцыйныя захворванні, гепаталогія, марфалогія.

## РЕЗЮМЕ

Лукашик Светлана Петровна

### Клинико-морфологические критерии оценки результатов терапии и прогноза рецидивов хронического гепатита С

**Ключевые слова:** хронический гепатит С (ХГС), патоиммуноморфогенез, интерферонотерапия (ИФТ), рецидивы, прогноз.

**Объект исследования:** больные ХГС, получающие ИФТ, комбинированную с урсофальком и амиксином.

**Цель работы:** оценить диагностическое и прогностическое значение комплексного морфологического исследования биоптата печени больных ХГС при разных вариантах ответов на ИФТ.

**Методы исследования:** эпидемиологические, клинические, лабораторные, вирусологические, морфологические.

**Полученные результаты:** доказано преимущество и необходимость применения комплексного метода морфологической диагностики ХГС, позволяющего объективно оценивать динамику (завершенность) патологического процесса в печени у больных, длительно получающих препараты интерферона; доказано, что ИФТ ХГС (монотерапия, 9–12 мес.) не приводит к завершению патологического процесса в печени, что является одной из причин рецидива болезни; разработан способ прогноза стойкой ремиссии и развития рецидивов при ХГС, позволяющий сократить экономические затраты на лечение и обеспечить более высокое качество жизни больных ХГС; разработаны схемы противорецидивной терапии больных ХГС препаратами УДХК и иммуномодуляторами.

**Научная новизна:** впервые выявлен комплекс характерных морфологических изменений (гистологических, цитологических, морфометрических, ультраструктурных) в печени в результате применения у одного больного различных методов оценки биоптата в динамике ИФТ, позволивший уточнить патоиммуноморфогенез и прогнозировать исходы ХГС после ИФТ; определены дополнительные ультраструктурные признаки, отражающие клинически значимые механизмы повреждения гепатоцитов; установлены ультраструктурные и цитологические изменения, характеризующие незавершенность патологического процесса в печени у больных ХГС с наличием полного ответа на ИФТ; установлены причины развития рецидивов, в основе которых находятся различные механизмы повреждения гепатоцитов (иммуноопосредованный эффект ЦТЛ, снижение регенераторной активности гепатоцитов).

**Рекомендации для использования.** Внедрение способа прогноза рецидива и новых схем противорецидивной терапии больных ХГС.

**Область применения:** инфекционные болезни, гепатология, морфология.

## SUMMARY

**Lukashyk Sviatlana Piatrouna**

### **Clinical and morphological criteria in evaluation of results of therapy and prognosis of recurrence of chronic C hepatitis**

**Key words:** chronic C hepatitis (HCV), pathoimmunomorphogenesis, interferon-therapy (IT), recurrences, prognosis.

Object of study: patients with HCV, administered IT, combined with Ursofalk and Amixin.

**Aim of study:** to evaluate diagnostic and prognostic value of complex morphological study of liver biotates in patients with HCV in cases of different variants of response to IT.

**Methods of study:** epidemiologic, clinical, laboratory, virologic, morphological.

**Results obtained:** Advantage and necessity of application of a complex method of morphological diagnosis of HVC, which enables to adequately evaluate the dynamics (completeness) of pathological process in liver of patients administered a long-term interferon therapy, has been proven; it has been confirmed that IFT of HVC (monotherapy; 9-12 months) can not lead to the end of pathological process in liver that serves as one of the causes of recurrence of the disease; method of prognosis of stable remission and development of recurrence of HVC has been developed; it enables to reduce economic expenses of administered therapy and to secure higher living standards in patients with HVC; patterns of anti-recurrent therapy have been developed for patients with HVC based on application of UDCA and immunomodulators.

**Scientific novelty:** complex of characteristic morphological changes (i.e. histological, cytological, morphological, morphometric, ultrastructural) has been revealed for the first time in liver of a patient as the result of application of various methods of evaluation of liver biotates within the course of the IFT; the said complex enabled to verify pathoimmunomorphogenesis as well as to forecast the outcome of HVC after IFT; additional ultrastructural signs, revealing clinically significant mechanisms of hepatocytes damage have been specified; ultrastructural and cytological changes, characterizing incomplete nature of pathologic process in liver of HCV patients with complete response to IFT, have been established; causes of development of recurrence of the disease have been specified, the basis of which comprises various mechanisms of hepatocytes damage (i.e. immunologic effect, predetermined by cytotoxic lymphocytes, and decrease in regenerative activity of hepatocytes).

**Recommendations for application:** Technique for prognosis of recurrence of the diseases and the new patterns of anti-recurrent therapy of patients with HCV should be introduced into clinical practice.

**Fields of application:** infectious diseases, hepatology, morphology.