

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 616.36-002-071-08-092:616.988

МИЦУРА
Виктор Михайлович

**ГЕПАТИТ С: МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА,
МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ, ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ
НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ИСХОДОВ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни

Минск 2015

Научная работа выполнена в учреждении образования «Гомельский государственный медицинский университет».

Научный консультант: **Жаворонок Сергей Владимирович**, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры инфекционных болезней учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Семенов Валерий Михайлович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Коломиец Наталья Дмитриевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эпидемиологии и микробиологии государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Романова Оксана Николаевна, доктор медицинских наук, доцент, заместитель директора по клинике государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии»

Оппонирующая организация: учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Защита состоится 28 мая 2015 г. в 14.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.04 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, bsmu@bsmu.by. Телефон ученого секретаря: +375 17 2725598.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан « ____ » _____ 2015 г.

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



А.М. Дронина

ВВЕДЕНИЕ

Гепатит С вирусная инфекция (HCV-инфекция) представляет собой одну из важнейших проблем здравоохранения в связи с частотой распространения, ростом заболеваемости, высоким риском развития цирроза печени (ЦП) и гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК). Хронический гепатит С (ХГС) формируется у 50–75% инфицированных HCV людей, при этом у каждого пятого из них в течение жизни развивается ЦП (Шахгильдян И.В. и др., 2003; Lavanchy D., 2009). Для ХГС характерно, как правило, малосимптомное течение, при этом гистологические изменения в ткани печени могут прогрессировать, и зачастую заболевание впервые диагностируется на стадии ЦП или ГЦК, которые имеют неблагоприятный прогноз и характеризуются низкими показателями качества жизни. В прогрессировании хронической HCV-инфекции играют роль различные генетические, иммунные механизмы и средовые факторы, прежде всего, злоупотребление алкоголем (Маевская М.В., 2007; Maasoumy B., 2012).

Гепатит С часто обнаруживается на фоне инфекции вирусом иммунодефицита человека (HIV-инфекции), что связано с единым парентеральным механизмом заражения. Прогрессирование ХГС у таких пациентов наблюдается быстрее, и в эпоху антиретровирусной терапии (АРТ) пациенты погибают не от последствий HIV-инфекции, а от HCV-ассоциированных ЦП и ГЦК (Matthews G., 2008; Васмут Я.-К., Рокштро Ю., 2012).

В диагностике инфекции используется метод иммуноферментного анализа (ИФА), а также полимеразная цепная реакция (ПЦР) для определения РНК HCV, генотипа вируса и вирусной нагрузки (Lange C., 2013). Оценка выраженности фиброза печени (Ф) важна для прогнозирования течения HCV-инфекции и учитывается при назначении терапии; для этого традиционно используется биопсия печени, которая постепенно заменяется неинвазивными методиками (Stauber R.E., 2007; Павлов Ч.С., 2008).

Генетические особенности человека (полиморфизм гена интерлейкина-28В (ИЛ-28В) и др.) влияют на исход HCV-инфекции (выздоровление, хронизация) и эффективность проводимой терапии (Ge D., 2009; Романов А.О. и др., 2010). В оценке эффективности различных схем лечения необходимо учитывать качество жизни пациентов и фармакоэкономические показатели (Цыркунов В.М. и др., 2012; Коваленко С.Н. и др., 2010; Кузнецова А.В., 2012; Spiegel B.M.R. et al., 2005). Генетические свойства вируса перспективно изучать для совершенствования противовирусной терапии и создания вакцины против HCV-инфекции (Thompson A.J., McNutchison J.G., 2009).

Актуальным являются изучение молекулярно-генетических и иммунных механизмов патогенеза, разработка новых методов диагностики HCV-инфекции, прогнозирование прогрессирования и эффективности противовирусной терапии инфекции с целью профилактики ее неблагоприятных исходов.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами, темами

Исследования выполнялись в научно-исследовательской лаборатории (НИЛ) УО «Гомельский государственный медицинский университет» (ГомГМУ) (зав. НИЛ к.м.н., доц. Воропаев Е.В.) в рамках 5 проектов НИР: 1) «Разработать и организовать производство диагностических иммуноферментных наборов: конфирматорный тест HBsAg, ИФА набор для выявления HBsAg с чувствительностью 0,1 нг/мл и ИФА набор для определения спектра антител к вирусу гепатита С» (2001–2005), № ГР 20013679; 2) «Изучение молекулярно-генетических механизмов в патогенезе соматических и инфекционных заболеваний и прогнозирование их течения. Разработка новых методов диагностики и реабилитационных технологий» в программе ГНТП ГК ПНИ «Современные технологии в медицине» (2006–2010), № ГР 20064268; 3) «Молекулярно-генетические механизмы формирования предрасположенности и особенностей течения заболеваний желудочно-кишечного тракта, репродуктивной, сердечно-сосудистой и кроветворной систем» в рамках ГПНИ «Фундаментальная и прикладная медицина и фармация» (2011–2013), № ГР 20112832; 4) «Изучение патогенетических механизмов формирования онкологической, сердечно-сосудистой и инфекционной патологии на основании молекулярно-генетических, биохимических и иммунологических исследований» (2014–2015), № ГР 20143166; 5) «Показатели цитокиновой регуляции при хроническом вирусном гепатите С и их изменения в зависимости от получаемой терапии» (2005–2007), грант БРФФИ № Б05М-188; № ГР 20052185.

Цель и задачи исследования

Цель исследования: на основе выявления молекулярно-генетических и иммунных механизмов патогенеза HCV-инфекции разработать методы диагностики, прогнозирования течения и лечения, профилактики ее неблагоприятных исходов.

Задачи исследования:

1. Изучить структуру циркуляции субтипов и свойства вируса гепатита С, его мутагенный потенциал, особенности и динамику распространения HCV-инфекции в современных условиях.
2. Исследовать структуру клинических проявлений и неблагоприятных исходов HCV-инфекции, качество жизни пациентов, особенности течения ХГС на фоне HIV-инфекции.
3. Разработать критерии оценки прогрессирования хронической HCV-инфекции, в том числе на фоне HIV-инфекции.

4. Разработать диагностический набор для определения антител против структурных (Core) и неструктурных (NS3, NS4 и NS5) белков HCV, оценить особенности их циркуляции и клиническое значение при ХГС.

5. Определить частоту встречаемости и клиническое значение полиморфизма гена ИЛ-28В (SNP rs8099917 и rs12979860), других молекулярно-генетических маркеров при хронической HCV-инфекции.

6. Разработать и внедрить методы прогнозирования эффективности и оптимизации комбинированной терапии ХГС на основе генотипа вируса и полиморфизма гена ИЛ-28В.

Объект исследования: госпитализированные пациенты с хронической HCV-инфекцией (хронический гепатит, ЦП, ГЦК), а также с ХГС на фоне HIV-инфекции.

Предмет исследования: распространение HCV-инфекции, молекулярно-биологические свойства HCV, клинические проявления ХГС, HCV-ассоциированного ЦП и ко-инфекции HCV/HIV, причины неблагоприятных исходов, качество жизни пациентов, фиброз печени и его прогрессирование, иммунный статус, спектр антител к HCV, полиморфизм гена ИЛ-28В (SNP rs8099917 и rs12979860), мутации генов РНКазы L (SNP 1385G>A) и гена HFE, аллели HLA-DRB1*1101 и HLA-DQB1*03, эффективность противовирусной терапии ХГС, методы лечения и профилактики неблагоприятных исходов хронической HCV-инфекции.

Научная новизна

Установлена структура циркуляции субтипов HCV в регионе, выявлены и депонированы в GenBank уникальные нуклеотидные последовательности по локусу NS3 трех штаммов HCV 1b субтипа у пациентов с ХГС. Доказан мутагенный потенциал HCV. Получены новые данные о распространении острого вирусного гепатита С (ОВГС) и ХГС в Гомельском регионе за 1997–2012 годы, путях заражения и сроках формирования ЦП в современных условиях. Дана клиническая характеристика HCV-ассоциированного ЦП в регионе в современных условиях, определены сроки развития декомпенсации, влияние алкогольной зависимости, структура причин смерти пациентов.

Разработан диагностический набор для выявления спектра антител к HCV (патент на полезную модель № 3779), с помощью которого определена частота выявления антител к отдельным белкам HCV у пациентов с ХГС, установлена взаимосвязь спектра антител с иммунологическими показателями: уровнями CD8+ клеток, иммунорегуляторного индекса, цитокина интерферона гамма (ИФН-γ).

Разработан алгоритм диагностики алкогольной зависимости у пациентов с ХГС и другими хроническими заболеваниями печени (патент Украины на по-

лезную модель № 65396), с помощью которого установлена частота алкогольной зависимости у пациентов с хронической HCV-инфекцией.

Предложен новый способ оценки фиброза печени у пациентов с ХГС, позволяющий на основе уровней тромбоцитов, АСТ и соотношений АСТ/тромбоциты и АСТ/АЛТ определять наличие выраженного фиброза и цирроза печени (патент на изобретение №18589).

Среди пациентов с хронической HCV-инфекцией установлена частота носительства мутантных аллелей G (SNP rs8099917) и T (SNP rs12979860) гена ИЛ-28В, ее отличия в зависимости от генотипа HCV. Проведена оценка значения полиморфизма гена ИЛ-28В (SNP rs8099917 и rs12979860) в прогнозировании эффективности интерферонотерапии ХГС в белорусской популяции. Определена частота встречаемости мутантных аллелей гена РНКазы L (SNP 1385G>A), гена HFE (C282Y и H63D), аллелей HLA-DRB1*1101 и HLA-DQB1*03 при ХГС, установлена связь носительства аллеля HLA-DQB1*03 с выраженностью фиброза печени.

Положения, выносимые на защиту:

1. Структура циркуляции субтипов HCV в регионе включает субтипы 1b (52,1%), 3a (36,2%), 2a (5,3%), 1a (2,1%), а также микст из двух субтипов 2a+3a (2,1%), 1b+3a (1,1%), и из трех субтипов 1b+2a+3a (1,1%). Выявлены и депонированы в GenBank уникальные нуклеотидные последовательности по локусу NS3 трех штаммов HCV 1b субтипа, выделенных от пациентов с ХГС (HQ588343.1; HQ588344.1; HQ588345.1). Вирус гепатита С обладает высокой мутагенностью, что проявляется в повышенной частоте хромосомных aberrаций (4,3%) и числе aberrантных клеток (5,1%) у пациентов с ХГС, а также частоте выявления микроядер 13,5% в культуре иммортализованных кератиноцитов. Заболеваемость ОВГС в Гомельском регионе за 1997–2012 гг. составила 2,0 на 100 000 населения и характеризовалась тенденцией к снижению (темп прироста –4,9%), превышая до 2006 года среднереспубликанскую (1,4 на 100 000 населения), при ежегодном росте регистрации ХГС с темпом прироста +8,1%.

2. Доля HCV-ассоциированных ЦП составляет 38,9% от всех пациентов с ЦП и 90,2% среди вирус-ассоциированных ЦП. HCV-ассоциированный ЦП формируется в трудоспособном возрасте (68,2%) и диагностируется впервые в среднем возрасте 47,1 лет, чаще у мужчин (58,2%). Среди пациентов с установленным впервые диагнозом ЦП на фоне HCV-инфекции у 54,7% лиц развивается декомпенсация ЦП в течение года с момента его выявления. У 32,3% пациентов с ХГС и у 49% лиц с ЦП имеется зависимость от алкоголя. У половины пациентов с алкогольной зависимостью декомпенсированный ЦП формируется в течение 20 лет после заражения HCV, без зависимости – через 35 лет. Причинами смерти пациентов с ЦП являются печеночная или печеночно-почечная недостаточность (64,1%), кровотечения из ВРВ (25,6%), гепатоцеллюлярная кар-

цинома (10,3%). Среди умерших от ЦП в регионе 69% имеют признаки алкогольной зависимости, 15,4% инфицированы HIV. У пациентов с ЦП снижены все показатели качества жизни: и физического, и эмоционального здоровья, как по сравнению с контрольной группой, так и с пациентами с ХГС. В течение первого года от старта АРТ HIV-инфицированные пациенты с ХГС умирают раньше, чем пациенты без ХГС.

3. Разработан способ определения наличия и степени выраженности фиброза печени у пациента с ХГС (патент на изобретение №18589) на основе уровней индексов АСТ/АЛТ и АСТ/тромбоциты (ИАТ), тромбоцитов, АСТ, с помощью которого определяют наличие выраженного фиброза печени (Ф2–Ф4) с чувствительностью 90,5% и специфичностью 93,6%. При HCV/HIV ко-инфекции в динамике в среднем через 36 месяцев выявляется рост непрямых маркеров фиброза ИАТ и FIB-4, а развитие выраженного фиброза или цирроза печени определяется у 26,8% обследованных, у половины из которых это происходит в пределах 14 лет наблюдения. Быстрая прогрессия фиброза печени у HCV/HIV ко-инфицированных лиц ассоциируется с уровнями CD4 клеток < 200/мкл.

4. С помощью разработанной иммуноферментной тест-системы для выявления спектра антител к HCV (патент на полезную модель № 3779) у пациентов с ХГС определена частота выявления антител к отдельным белкам HCV: Core (98,9%), NS3 (96,3%), NS4 (96,0%), NS5 (58,1%). У большинства обследованных (90,6%) одновременно присутствуют антитела к Core, NS3 и NS4-белкам. У пациентов с полным спектром антител выше уровни CD8+ клеток и ниже иммунорегуляторный индекс. У лиц, имеющих анти-NS5, снижены сывороточные уровни ИФН-γ и наблюдается более низкий ответ на противовирусную терапию в сравнении с лицами, не имеющими .

5. Среди пациентов с хронической HCV-инфекцией в Республике Беларусь частота носительства мутантных аллелей G (SNP rs8099917) и T (SNP rs12979860) гена ИЛ-28В выше, чем в европейской популяции. У пациентов с 1 генотипом HCV чаще встречаются мутантные аллели rs8099917 и rs12979860. При ХГС полиморфизм гена РНКазы L (SNP 1385G>A) представлен сочетанием аллелей: GG (25,0%), GA (58,3%) и AA (16,7%). Мутантные аллели гена HFE (С282Y и H63D) выявлены у 28,9% лиц с хронической HCV-инфекцией. Аллель HLA-DRB1*1101 выявляется у 22,3% пациентов с ХГС, аллель HLA-DQB1*03 – у 29,1%. Носительство аллеля HLA-DQB1*03 при ХГС ассоциируется с меньшей выраженностью фиброза печени.

6. Полиморфизм гена ИЛ-28В (SNP rs8099917 и SNP rs12979860) определяет эффективность противовирусного лечения стандартным или пегилированным интерфероном альфа в сочетании с рибавирином у пациентов с 1 генотипом HCV. Для пациентов с предикторами стойкого ответа на лечение (генотип 2 или 3 HCV, «благоприятные» сочетания аллелей CC (rs12979860) и TT

(rs8099917) гена ИЛ-28В при 1 генотипе HCV) рекомендуется использовать стандартные интерфероны и рибавирин, что позволяет снизить стоимость одной ремиссии на 18,5% (для rs12979860) или на 36,3% (для rs8099917).

Личный вклад соискателя

Соискателем самостоятельно проведен патентно-информационный поиск по теме исследования, проведена статистическая обработка, интерпретация и графическое представление результатов исследования, написан текст диссертации. Совместно с научным консультантом выбрана тема диссертации, определены цель и задачи, базы и методы исследования, обсуждены выводы и положения, выносимые на защиту. Набор и клиническое обследование пациентов, назначение этиотропной терапии и контроль ее эффективности у пациентов с хронической HCV-инфекцией проводились при участии работников УЗ «Гомельская областная инфекционная клиническая больница» (ГОИКБ): Павлович И.Л., Терешков Д.В., Казначеева Е.П.

Личный вклад соискателя в научные результаты, вошедшие в диссертацию, составляет 85%. Большинство публикаций написаны автором лично, среди соавторов – научный консультант, сотрудники НИЛ и кафедры инфекционных болезней ГомГМУ, врачи ГОИКБ. За их участие в проводимых исследованиях автор выражает им искреннюю благодарность.

Соискателем опубликована монография в соавторстве, в которой представлены обзор литературы и результаты исследования по всем разделам диссертации, личный вклад – 90% [1]. Разделы, посвященные изучению роли непрямых маркеров фиброза печени и качества жизни пациентов при хронической HCV-инфекции, разработаны автором самостоятельно, вклад – 100% [16, 18, 43, 44, 47, 73, 83]. В подготовке и обсуждении материалов эпидемиологической характеристики HCV-инфекции принимали участие к.м.н. Волченко А.Н., Салажкова И.Ф., к.б.н., доц. Стародубцева М.Н., д.м.н., проф. Жаворонок С.В., вклад соискателя – 95% [13, 74]. В выполнении разделов работы, связанных с проведением иммунологических и молекулярно-генетических лабораторных исследований автору оказывали помощь сотрудники НИЛ ГомГМУ (зав. лабораторией к.м.н., доц. Воропаев Е.В., Осипкина О.В., Баранов О.Ю., Голубых Н.М., Кондрачук А.Н., к.б.н. Воропаева А.В., Аль-Шаби А.-Х.), вклад соискателя в совместно опубликованные работы 85% [2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 11, 19, 21, 23, 28, 30, 31, 34, 36, 37, 42, 45, 48, 49, 51, 52, 53, 54, 55, 57, 60, 62, 63, 64, 69, 71, 78, 79, 80, 82]. Цитогенетические исследования проводились в лаборатории Международного государственного экологического университета им. А.Д. Сахарова, г. Минск (заведующий лабораторией д.б.н., проф. Мельнов С.Б.), вклад соискателя – 90% [29, 35, 59, 61]. Раздел по мутациям гена HFE выполнен совместно с д.м.н., доц. Калининым А.Л. и Пальцевым И.В., вклад соискателя – 90% [8]. Оценка признаков алкогольной зависимости у пациентов с ХГС проводи-

лась совместно с д.м.н., доц. Сквирой И.М.; внедрение методики диагностики алкогольной зависимости в Украине проведено совместно с сотрудниками Харьковской медицинской академии последипломного образования (д.м.н., проф. Сосин И.К., к.м.н., доц. Чуев Ю.Ф., Гончарова Е.Ю. и др.), вклад соискателя – 90% [12, 14, 14, 15, 39, 46, 66, 77, 81, 84]. Часть работы, связанная с оценкой и прогнозированием результатов противовирусного лечения пациентов, исследованием клинического значения факторов гуморального и клеточного иммунитета, а также наблюдением HIV-инфицированных пациентов, проведена совместно с сотрудниками кафедры инфекционных болезней ГомГМУ (к.м.н. Козорез Е.И., д.м.н., доц. Красавцев Е.Л., к.м.н. Демчило А.П.), вклад соискателя – 75% [9, 20, 26, 38, 40, 41, 56, 67, 70, 72, 76].

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Полученные результаты исследования доложены и обсуждены на Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» и 15-й научной сессии ГомГМУ (Гомель, 18-20 мая 2005); Республиканской научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Проблемы и перспективы развития медицины в постчернобыльский период» (Гомель, 26 апреля 2007); Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» и 16-й итоговой научной сессии ГомГМУ (Гомель, 2007); Международной научно-практической конференции «Вирусные инфекции: эпидемиология, клиника, лабораторная диагностика и профилактика» (Минск, 2007); Clinical Skills Series Expert Training in HIV for Clinicians (Минск, 12–13 сентября 2008); Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» и 18-й итоговой научной сессии ГомГМУ (Гомель, 26–27 февраля 2009); 8-м Международном симпозиуме гепатологов Беларуси «Актуальные вопросы гепатологии» (Могилев, 1–2 октября 2009); 12th European AIDS conference / EACS (Кёльн, Германия, 11–14 ноября 2009); Всероссийской научно-практической конференции «Инфекционные осложнения при иммунодепрессиях» (Санкт-Петербург, 11–12 февраля 2010); Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» и 19-й итоговой научной сессии ГомГМУ (Гомель, 22–23 февраля 2010); Республиканской научно-практической конференции «Современные молекулярно-генетические методы диагностики в медицине» (Гомель, 22 октября 2010); Республиканской научно-практической конференции с международным участием памяти проф. О.А. Голубева «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической морфологии» (Гомель, 4–5 мая 2010); Республиканском научно-практическом семинаре «Острая и хроническая алкогольная интоксикация: унификация подходов к клинико-морфологической диагностике» (Минск, 24 июня 2010); Первом Конгрессе Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (Санкт-Петербург, 1–3 декабря 2010); Республиканской научно-

практической конференции «Актуальные проблемы медицины», посвященной 20-летию ГомГМУ (Гомель, 24–25 февраля 2011); Международной научно-практической конференции «25 лет после Чернобыльской катастрофы» (Гомель, 12-13 апреля 2011); Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» и 21-й итоговой научной сессии ГомГМУ (Гомель, 16–17 февраля 2012); Международной научно-практической конференции «Чернобыльские чтения- 2012» (Гомель, 19–20 апреля 2012); X Российской конференции «Вирусные гепатиты – эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика» (Москва, 17–19 сентября 2013); X международном симпозиуме гепатологов Беларуси «Актуальные вопросы гепатологии» (Гродно, 26–27 сентября 2013); Республиканской научно-практической конференции «Современные проблемы инфекционной патологии человека» (Минск, 31 октября – 1 ноября 2013); Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» и 22-й итоговой научной сессии ГомГМУ (Гомель, 14–15 ноября 2013); 6-м съезде инфекционистов Республики Беларусь (Витебск, 29–30 мая 2014); Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» и 23-й итоговой научной сессии ГомГМУ (Гомель, 13–14 ноября 2014).

Результаты диссертации внедрены в практическое здравоохранение в Республике Беларусь в виде 5 инструкций по применению и используются врачами Гомельской областной инфекционной клинической больницы, Гомельской городской клинической больницы № 3, городской клинической инфекционной больницы города Минска, РНПЦ радиационной медицины и экологии человека, Речицкой центральной районной больницы, а также внедрены в учебный процесс на четырех кафедрах учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет».

Опубликование результатов диссертации

По результатам диссертационного исследования опубликовано 84 печатные работы. Общий объем публикаций составляет 37,9 авторских листов (а.л.). Из опубликованных работ: 1 монография (14,2 а.л.); 29 статей (14,5 а.л.) в рецензируемых журналах, соответствующих пункту 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь (из которых 4 статьи (2,3 а.л.) – в журналах, рекомендуемых ВАК Украины и Российской Федерации); 2 журнальные статьи в изданиях, не входящих в перечень (0,9 а.л.); 24 статьи в сборниках научных статей, материалов республиканских и международных съездов и конференций (6,3 а.л.), 18 – в сборниках в виде тезисов в Республике Беларусь, СНГ и Германии (2,0 а.л.). Утверждены Министерством здравоохранения Республики Беларусь 5 инструкций по применению, изданы в Украине методические рекомендации для врачей, получены 4 патента на изобретения и полезные модели. Без соавторов опубликовано 12 работ.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, четырех глав по результатам собственных исследований, заключения, библиографического списка и 10 приложений. Работа изложена на 273 страницах машинописного текста, содержит 62 таблицы, 38 рисунков. Объем, занимаемый иллюстрациями и таблицами – 35 страниц, приложениями – 43 страницы. Библиографический список включает 99 русскоязычных источников, 317 зарубежных и 84 собственных публикаций (всего 42 страницы).

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и методы исследования

Общая характеристика пациентов. За период с 2004 по 2014 гг. в ГОИКБ как одномоментно, так и проспективно обследовано всего 908 пациентов с хроническими формами HCV-инфекции: ХГС, HCV-ассоциированными ЦП и ГЦК, включая лиц с HCV/HIV ко-инфекцией. Методом анкетирования с целью изучения основных факторов риска заражения и сроков выявления заболевания, признаков алкогольной зависимости и качества жизни было обследовано 223 пациента. Контрольную группу для изучения качества жизни составили 50 человек. С целью оценки значимости непрямых маркеров фиброза печени было обследовано 110 пациентов. Клиническая характеристика стационарных пациентов с HCV-ассоциированным ЦП изучена у 196 лиц, за период наблюдения умерли в стационаре 39 пациентов. С целью изучения распространенности и клинического значения мутаций в генах ИЛ-28В и РНКазы L, HFE, а также аллелей HLA-DRB1*1101 и HLA-DQB1*03 было обследовано 237 пациентов из г. Гомеля и г. Минска. Контрольную группу для РНКазы L составили 77 человек, а для аллелей HLA-DRB1*1101 и HLA-DQB1*03 – 72 человека. Проанализированы сывороточные уровни цитокинов у 93 пациентов, параметры клеточного иммунитета – у 67. Параметры специфического гуморального иммунитета изучены у 195 пациентов. Обследован цитогенетический статус у 14 пациентов с ХГС (группа контроля 129 лиц), кластогенность сыворотки – у 25. С целью оценки диагностической и клинической значимости показателей иммунного статуса и вирусной нагрузки HIV у пациентов, инфицированных двумя вирусами: HCV и HIV, были обследованы 124 пациента. Результаты противовирусного лечения ХГС проанализированы у 28 пациентов с HIV-инфекцией.

Дополнительно ретроспективно были проанализированы данные обследования 1158 пациентов. Для оценки диагностического значения ИФА и ПЦР было обследовано 500 лиц с острыми и хроническими формами HCV-инфекции.

Вирусологические характеристики (генотип HCV, вирусная нагрузка) изучены у 94 пациентов с ХГС, находившихся на лечении препаратами альфа-интерферона (ИФН) и рибавирина (РБВ). Методом сплошной выборки была изучена структура пациентов с ЦП в инфекционном и гастроэнтерологическом стационарах, всего изучено 283 случая госпитализации 211 пациентов. Анализ распространенности HCV-инфекции и выживаемости в течение 1 года от назначения АРТ проведен среди 353 лиц с HIV-инфекцией. Клинические проявления, лабораторные данные, скорость прогрессирования фиброза печени проанализированы по результатам обследования 193 пациентов с HCV/HIV ко-инфекцией.

ПЦР-исследования проводились в НИЛ ГомГМУ. Выявление РНК HCV методом качественной ПЦР проводили, используя коммерческие тест-системы «АмплиСенс HCV-FRT», Россия. Генотип HCV определяли методом ПЦР с помощью тест-систем «АмплиСенс[®] HCV-генотип-EPh». Вирусную нагрузку определяли методом Real-Time ПЦР с использованием тест-систем «АмплиСенс HCV-МОНИТОР-FRT» на амплификаторе RotorGene 3000 (Corbett Research, Австралия). Лимфоциты периферической крови для анализа вирусной нагрузки выделяли в градиенте плотности фиколл-верографина. Для анализа структуры HCV-NS3 на первом этапе выделяли РНК с использованием комплекта реагентов «АмплиСенс РИБО-Сорб», а затем получали кДНК с помощью стандартной реакции обратной транскрипции с применением коммерческой ревертазы («ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора»). Амплификацию проводили, используя амплификатор Palm Cycler (Corbett Research, Австралия). Был применен гнездовой (Nested) вариант ПЦР, полученные в результате ампликоны были использованы для проведения дальнейшей реакции секвенирования. Электрофоретическое разделение продуктов реакции проводили с помощью генетического анализатора ABI PRISM 310 (Applied Biosystems, США). Анализ полученных результатов проводили при помощи программного пакета Sequencing Analysis Software 5.1.1 (Applied Biosystems, США), CLC Sequence Viewer 6.5.4. Для выявления полиморфизма гена ИЛ-28В: SNP 39743165Т>G (rs8099917) и SNP 39738787С>Т (rs12979860), а также мутаций гена РНКазы L 1385G>А (rs486907) и гена HFE (С282У и Н63D) использовали метод ПЦР-ПДФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов), праймеры были синтезированы фирмой «Праймтех» (Беларусь). Детекцию продуктов ПЦР проводили с помощью гель-электрофореза. Для подтверждения правильности интерпретации определенных по фореграмме генотипов был проведен мелтинг (плавление) рестрикционных фрагментов с использованием интеркалирующего красителя Zuber Green-1. Для выявления аллелей HLA-DRB1*1101 и HLA-DQB1*03 применили метод аллель-специфической Real Time ПЦР с электрофоретической детекцией.

Цитогенетический анализ. Лимфоциты периферической крови культивировали 48 часов в питательной среде (среда RPMI-1640 и 15% эмбриональной телячьей сыворотки) с добавлением ФГА «ПанЭко» (Россия), деление клеток останавливали на 45 часу на стадии метафазы с помощью колхицина. После трехкратной фиксации пробы наносили на предметные стекла и приготовленные препараты окрашивали красителем Романовского–Гимзы. Цитогенетический анализ проводили на микроскопе Nikon (Япония) при увеличении $\times 1000$. Общее количество проанализированных метафазных пластинок – 2708, в контроле – 27917. Тест-система для изучения кластогенности сыворотки – культура иммортализованных вирусом HPV 16 кератиноцитов человека. После добавления в культуру клеток сыворотки крови обследуемых проводился подсчет микроядер на инвертированном микроскопе при увеличении $\times 400$.

Иммунологические методы исследования. Процентное отношение субпопуляций лимфоцитов проводилось с помощью проточного цитофлюориметра FacScan (Becton Dickinson, США). Определяли относительные значения иммунных клеток и соотношение CD4/CD8 (иммунорегуляторный индекс). Абсолютное количество клеток в 1 мкл пересчитывали из формулы крови. В сыворотках крови лиц с ХГС определяли уровни цитокинов: фактор некроза опухоли альфа (ФНО- α), интерферона гамма (ИФН- γ), интерлейкина-1альфа (ИЛ-1 α) и интерлейкина 4 (ИЛ-4) с помощью ИФА тест-систем фирмы «Цитокин» (Санкт-Петербург, Россия), постановка ИФА проводилась на базе НИЛ ГомГМУ, для учета результатов использовали анализатор «АИФ-М/340» (ПО «Витязь», Витебск). Общие антитела к HCV (анти-HCV tot) определялись методом ИФА с использованием тест-систем фирмы НПО «Диагностические системы» (Н. Новгород). Анализ специфических антител к Core, NS3, NS4 и NS5 белкам HCV в сыворотках крови проводили с помощью разработанного нами ИФА набора («Тест-система иммуноферментная, подтверждающая выявление антител к вирусу гепатита С (анти-HCV СПЕКТР)», ТУ ВУ 400022681.003-2006). Обнаружение антител к HCV класса IgM (анти-HCV IgM) проводилось с помощью тест-систем фирмы «ИмБио» (Н. Новгород).

Анкетные методы. Для изучения качества жизни применяли опросник SF-36. Для скрининга на наличие зависимости от алкоголя использованы опросники CAGE и MAST (Michigan Alcoholism Screening Test).

Статистическая обработка полученных результатов выполнена с использованием статистического модуля программы Microsoft Excel 2003, а также пакета статистического анализа данных STATISTICA for Windows v.6.1 (StatSoft, США). ROC-анализ проведен с использованием программы MedCalc 10.2.0.0 (MariaKerke, Бельгия). Используются параметрические и непараметрические статистические критерии в зависимости от цели исследования и параметров распределения данных. Статистически значимыми считали различия при уровне $p \leq 0,05$.

Результаты собственных исследований

Особенности распространения HCV-инфекции в современных условиях
Многолетняя динамика заболеваемости острым и хроническим вирусным гепатитом С в Гомельской области за 1997–2012 гг. Проанализированы данные учетно-отчетной документации ГУ «Гомельский областной ЦГЭ и ОЗ». Заболеваемость ОВГС в Гомельском регионе за 1997–2012 гг. составила 2,0 на 100 000 населения и характеризовалась тенденцией к снижению (темп прироста –4,9%), превышая до 2006 года среднереспубликанскую (1,4 на 100 000 населения). В то же время отмечается тенденция к росту числа случаев ХГС, темп прироста +8,1%. Среднемноголетний показатель выявления ХГС в Гомельской области за 2002–2012 гг. составил 19,4 случаев на 100 000 населения, в целом по Республике Беларусь – 20,7 на 100 000 населения. Для сравнения, показатель выявляемости HCV инфекции в странах Европы – 6,2 на 100 000 (N. Mühlberger et al., 2009). В области суммарное распространение всех регистрируемых форм HCV-инфекции (ОВГС, ХГС, «носители HCV») за 1997–2012 годы составляет в среднем 59,9 на 100 000 населения.

Анализ путей и факторов инфицирования. Проанализированы данные эпидемиологического анамнеза у 180 пациентов с ХГС. Среди обследованных лиц с ХГС 6,1% (95% ДИ 3,3–10,7%) составили лица, инфицированные HIV. Установлен предположительный год заражения у 87,8% пациентов. ОВГС в анамнезе обнаружен у 10% (95% ДИ 6,3–15,3) пациентов; 10% (95% ДИ 6,3–15,3) были выявлены впервые на стадии ЦП. Возраст пациентов во время заражения различался в зависимости от пола. У мужчин (n=107) возраст в момент заражения составил $27,6 \pm 1,0$ лет, а у женщин (n=51) – $32,3 \pm 1,7$ года ($p=0,009$, тест Манна–Уитни). Медицинские вмешательства как причину заражения указали 115 человек (63,9%); профессиональное заражение медработников отмечено у 10 человек (5,6%). Немедицинские парентеральные вмешательства послужили причиной заражения 46 пациентов (25,6%). Заразились в результате введения наркотиков позднее 1995 г. 17,9% (95% ДИ 10,9–28,0) человек.

Модель установления времени с момента инфицирования. В анализ включены 158 пациентов, для которых известна продолжительность заболевания с момента заражения. Построена таблица кумулятивных частот и график логистической функции. Полученное уравнение $y = a / (1 + \exp(-k \times (x - x_c)))$ удовлетворительно описывает экспериментальные данные, уточненный коэффициент аппроксимации $R^2=0,988$. Параметры логистической модели: a – верхний уровень (весь объем выборки), x_c – время достижения 50% насыщения ($5,1 \pm 0,2$ года), $k=0,209 \pm 0,009$ (скорость роста, год⁻¹). Согласно модели установлено, что в течение первого года после инфицирования выявляется 29,8% зараженных HCV, выявление 50% инфицированных происходит в течение первых 5 лет после заражения.

Клиническое значение иммуноферментного анализа в диагностике HCV-инфекции

Разработка отечественной иммуноферментной тест-системы для определения спектра антител к HCV. Тест-система построена на основе рекомбинантных и синтетического фрагментов структурных и неструктурных белков HCV (Core, NS3, NS4 и NS5). Основными этапами разработки иммуноферментного набора являлись: получение сенсibilизированного планшета, подбор и верификация тестируемых сывороток, используемых в качестве контрольных образцов, отработка методики ИФА, методика учета реакции, интерпретация результатов ИФА. В качестве тест-систем сравнения использовали аналогичные тест-системы: РекомбиБест анти-ВГС-Спектр G/M (ЗАО «Вектор-Бест» г. Новосибирск) и ИФА-АНТИ-HCV-СПЕКТР-G (НПО «Диагностические системы» г. Нижний Новгород). Аналитические характеристики разработанной тест-системы аналогичны тест-системам российского производства (чувствительность и специфичность 100%). В то же время, коэффициенты позитивности разработанной тест-системы значимо выше, чем у сравниваемых тест-систем ($p < 0,05$). Разработанная тест-система прошла официальные медицинские испытания на трех клинических базах: Государственное учреждение «НИИ эпидемиологии и микробиологии», РНПЦ «Мать и дитя», Минский консультационно-диагностический центр. Были разработаны и зарегистрированы технические условия ТУ ВУ 400022681.003-2006 (№ ГР Мн-7.5222-0504).

С целью клинической апробации разработанного диагностического набора обследован 191 пациент. Выявлено, что у 98,9% лиц с ХВГ и ОВГ выявлены антитела к Core-белку, у 96,3% – антитела к NS3, у 96,0% – антитела к NS4, у 58,1% – антитела к NS5. У большинства обследованных с ХГС (90,6%) одновременно выявлялись антитела к Core, NS3 и NS4-белкам. Ретроспективно проанализирована частота выявления антител анти-NS5 до начала интерферонотерапии в зависимости от вирусологического ответа к завершению курса лечения у 48 пациентов. Вирусологический ответ на терапию чаще ассоциировался с отсутствием анти-NS5 (62,5%), в то же время у не ответивших чаще анти-NS5 выявлялись (68,7%; $\chi^2=4,29$; $p=0,038$).

Клиническое значение молекулярно-генетических методов диагностики HCV-инфекции

Структура циркуляции субтипов HCV у 94 пациентов с ХГС включает субтипы 1b (52,1%), 3a (36,2%), 2a (5,3%), 1a (2,1%), микст из двух субтипов 2a+3a (2,1%), 1b+3a (1,1%), из трех субтипов 1b+2a+3a (1,1%). Среди 53 лиц с генотипом 1 мужчин было 75,5%, женщин – 24,5%, а среди 41 пациента с генотипами 2 и 3 – 46,3% и 53,7% соответственно ($\chi^2=8,39$; $p=0,004$). Оценивалось количество РНК HCV в сыворотке крови 54 лиц с ХГС. Значения вирусной нагрузки колебались от 8192 МЕ/мл до 52 172 889 МЕ/мл (медиана –

263 104 МЕ/мл). У 10 пациентов определялась вирусная нагрузка (ВН) HCV в сыворотке крови (СК) и лимфоцитах периферической крови (ЛПК). По данным линейного регрессионного анализа зависимость ВН HCV в ЛПК от ВН HCV в СК описывается уравнением: $VH_{LPK} = 9,0238 \times (VH_{СК}) + 105151$. Коэффициент аппроксимации $R^2=0,9303$.

Изучалась нуклеотидная последовательность локуса NS3 квазивидов HCV 1b субтипа, выделенных от 19 пациентов с ХГС, из которых получали интерферонотерапию 11 человек. Идентификация изолятов была проведена с помощью программы BLAST в базе данных NCBI и HCV Sequence Database. Нуклеотидные последовательности трех изученных образцов NS3 локуса HCV были депонированы в GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/HQ588343.1>; /HQ588344.1; /HQ588345.1). Среди изолятов 1b субтипа была установлена высокая степень полиморфизма. Полученные нуклеотидные последовательности сравнивались с пятью аналогами из базы данных GenBank (NCBI № EF139757,1; AM055846,1; EU155258,2; FJ002568,1; EU155280,2) (рисунок 1).

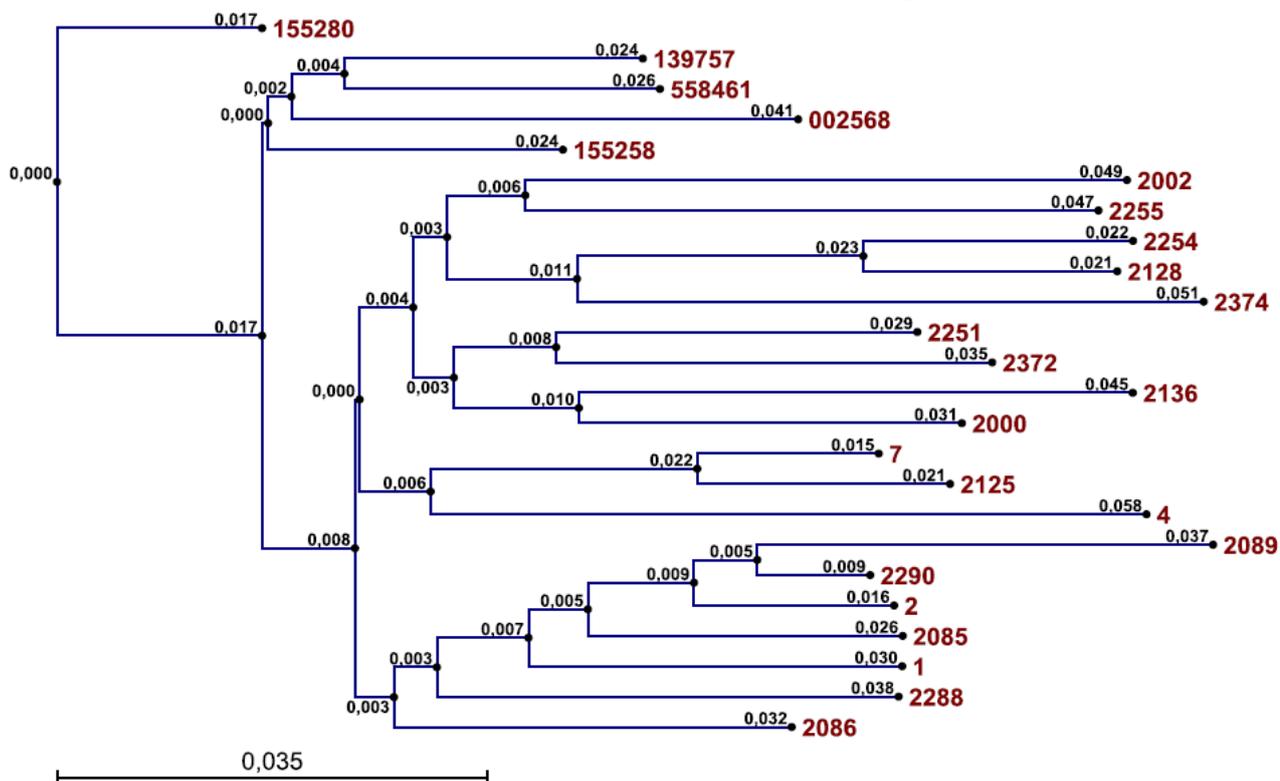


Рисунок 1. – Дендрограмма, иллюстрирующая степень генетической дифференциации HCV генотипа 1b в зоне локуса NS3 между проанализированными образцами в сравнении с изолятами из базы данных GenBank (№ 155280, 139757, 558461, 002568, 155258).

Изоляты из GenBank отличаются от образцов из нашего исследования и составляют отдельный кластер, что говорит об уникальности штаммов 1b субтипа, выделенных от пациентов в г. Гомеле. Нуклеотидная последовательность локуса NS3 у лиц, ответивших и не ответивших на терапию, видимо

не различалась. Проанализирован полиморфизм локуса NS3 у пациентов с ранним развитием ЦП после заражения (от 12 до 18 лет) в сравнении с пациентами без признаков ЦП со стажем инфекции более 15 лет. Проанализированные образцы от пациентов с быстрым прогрессированием болезни характеризуются минимальными отличиями. Полиморфизм образцов от пациентов с медленным прогрессированием болезни был более выраженным.

Прогнозирование течения HCV-инфекции при помощи не прямых маркеров фиброза печени. Было обследовано 110 пациентов с ХГС, из которых у 71 пациента была выполнена биопсия печени, дополнительно в исследуемую группу включены 39 пациентов с достоверно клинически верифицированным циррозом печени классов В и С по Чайлд-Пью (Ф4). У пациентов определяли количество тромбоцитов (Тр) и показатели биохимического анализа крови (АЛТ, АСТ). Введен показатель верхняя граница нормы (ВГН) для значений АЛТ и АСТ. Рассчитывались индексы АСТ/АЛТ (ВГН АСТ/ВГН АЛТ) и индекс АСТ/Тр (ИАТ), который рассчитывался по формуле: $ИАТ = (АСТ/ВГН АСТ) \times 100 / Тр$ (Wai С.Т., 2003).

Всего у пациентов исследуемой группы выявлены следующие стадии фиброза: Ф0 – 24 чел. (21,8%), Ф1 – 23 чел. (20,9%), Ф2 – 12 чел. (10,9%), Ф3 – 9 чел. (8,2%) и Ф4 – 42 чел. (38,2%). С нарастанием стадии фиброза снижался уровень тромбоцитов, повышались уровни АСТ, индексы АСТ/АЛТ и ИАТ. Эти показатели показали высокую значимую ($p < 0,0001$) корреляционную связь со стадией фиброза: ИАТ ($rs=0,84$), АСТ ($rs=0,76$), АСТ/АЛТ ($rs=0,71$), тромбоциты ($rs= -0,73$). Значимость показателей тромбоцитов, АСТ, индексов АСТ/АЛТ и ИАТ с помощью ROC-анализа оценивалась для прогноза выраженного фиброза (Ф2–Ф4) и цирроза (Ф4). Оценивались площадь под кривой (ППК), ее 95% доверительный интервал (ДИ), чувствительность и специфичность параметров при найденной точке разделения.

При значениях $ИАТ \leq 0,533$ (ППК 0,959, 95% ДИ 0,904–0,988), $АСТ \leq$ верхняя граница нормы АСТ (ППК 0,922, 95% ДИ 0,855–0,964), тромбоцитов $\geq 180 \times 10^9/л$ (ППК 0,88, 95% ДИ 0,804–0,934), $АСТ/АЛТ \leq 1$ (ППК 0,858, 95% ДИ 0,778–0,917) определяют отсутствие фиброза, или минимальный фиброз (Ф0-Ф1). При наличии двух и более из следующих показателей: $ИАТ > 0,533$, $АСТ >$ верхняя граница нормы АСТ, тромбоциты $< 180 \times 10^9/л$, $АСТ/АЛТ > 1$ определяют наличие выраженного фиброза (Ф2–Ф4) с чувствительностью 90,5% и специфичностью 93,6%. Циррозу печени (Ф4) соответствуют значения $ИАТ > 0,974$ (ППК 0,955, 95% ДИ 0,898–0,985), уровень тромбоцитов $\leq 126 \times 10^9/л$ (ППК 0,925, 95% ДИ 0,859–0,967), $АСТ/$ верхняя граница нормы $АСТ > 1,5$ (ППК 0,906, 95% ДИ 0,836–0,953), $АСТ/АЛТ > 1,21$ (ППК 0,863, 95% ДИ 0,784–0,921).

Естественное течение HCV-инфекции и исход в цирроз печени, причины неблагоприятных исходов

HCV-ассоциированные циррозы в структуре госпитализированных пациентов с циррозами печени. Методом сплошной выборки за сентябрь 2009 – ноябрь 2010 гг. была изучена структура 283 случаев госпитализации 211 пациентов с ЦП в инфекционном и гастроэнтерологическом стационарах. Доля HCV-ассоциированных ЦП составляет 38,9% (95% ДИ 33,4–44,7) от всех пациентов с ЦП и 90,2% (95% ДИ 83,5–94,4) среди вирус-ассоциированных ЦП.

Структура клинических проявлений и прогрессирование HCV-ассоциированного цирроза (n=196). HCV-ассоциированный ЦП формируется чаще в трудоспособном возрасте (68,2%; 95% ДИ 60,4–75,2) и диагностируется впервые в среднем возрасте 47,1 лет (95% ДИ 45,2–49,0), чаще у мужчин (58,2%; 95% ДИ 51,2–64,8). Доля HIV-инфицированных составляет 14,8% (95% ДИ 10,5–20,5). Декомпенсация ЦП в среднем выявляется в возрасте 49,2 лет (95% ДИ 46,2–52,2). Среди пациентов с установленным впервые диагнозом ЦП на фоне HCV-инфекции у 54,7% лиц (95% ДИ 44,2–64,8) развивается декомпенсация ЦП в течение первого года с момента его выявления. У 2,6% (95% ДИ 0,9–6,0) пациентов в возрасте от 55 до 76 лет на фоне ЦП за время наблюдения сформировалась ГЦК. Зависимость от алкоголя имеется у 49,0% лиц (95% ДИ 41,2–56,9). Метаболические нарушения (сахарный диабет или ожирение) выявлены у 9,6% пациентов с ЦП. Среди наблюдаемых пациентов преобладают лица с классом С по Чайлд-Пью (41,8%).

Проведен анализ времени от момента возможного заражения HCV до декомпенсации ЦП у 89 пациентов. Декомпенсация развилась у 44,9% пациентов, «медиана выживаемости» составила 25 лет. Было рассчитано время от заражения HCV до декомпенсации ЦП в зависимости от наличия алкогольной зависимости (АЗ) у 74 пациентов. Завершенных исследований было 31 (42%), цензурированных – 43 (58%). В анализ не включались пациенты в ремиссии по АЗ. Различия во времени до наступления исхода статистически значимы ($p=0,0005$, лог-ранговый тест). Очевидно, что при наличии АЗ HCV-инфекция прогрессирует быстрее: через 15 лет от момента заражения ЦП с декомпенсацией формируется почти у трети пациентов с АЗ и у менее 10% лиц без признаков АЗ. У половины лиц с АЗ декомпенсация ЦП наступает в течение 20 лет, а у половины лиц без АЗ для этого требуется более 35 лет. Через 40 лет от момента заражения все пациенты с АЗ погибают, в то время как выживают более 40% лиц без АЗ.

Причины неблагоприятных исходов при HCV-ассоциированном циррозе печени. Проанализировано 39 случаев смерти пациентов с HCV-ассоциированным ЦП в инфекционном стационаре (ГОИКБ) за 2002–2012 гг. Из них преобладали мужчины – 61,5% (95% ДИ 45,9–75,1), средний возраст – $47,9 \pm 2,6$ лет. Алкогольный анамнез уточнен у 29 из 39 пациентов, 69% (95% ДИ 50,6–82,9)

имели клинические признаки АЗ. HIV-инфекция имела у 15,4% умерших, причем у большинства находилась в III стадии (ВОЗ, 2002) и лишь у одного пациента – в стадии СПИДа. Непосредственной причиной смерти у 10 пациентов (25,6%; 95% ДИ 14,4–41,2) явилось осложнение портальной гипертензии – кровотечение из варикозно расширенных вен (ВРВ) пищевода и желудка с развитием острой постгеморрагической анемии. У 4 пациентов (10,3%; 95% ДИ 3,5–24,2) в возрасте 55, 68, 71 и 76 лет клинически заподозрено наличие ГЦК, которая впоследствии подтверждена на аутопсии. Смерть у них наступила вследствие прогрессии опухолевого процесса с развитием печеночной недостаточности (4) и геморрагического синдрома (1). У остальных 25 пациентов (64,1%) смерть наступила от декомпенсации печеночной недостаточности: печеночная энцефалопатия 3–4 степени (кома) – 3 чел., печеночная и печеночно-почечная недостаточность (включая гепаторенальный синдром) – 22 чел. (56,4%). У 9 (23,1%) умерших за время последней госпитализации отмечено наличие бактериальных осложнений, отягчающих состояние пациентов.

Влияние алкогольной зависимости (АЗ) на клинические проявления и скорость прогрессирования HCV-инфекции

Обследовано методом опроса 127 пациентов с ХГС об употреблении ими алкоголя и проведен тест CAGE, который показал следующие результаты: 0 баллов – у 25,2% пациентов, 1 балл – у 20,5%, 2 балла – у 20,5%, 3 балла – у 18,9%, 4 балла – у 14,9%. У 50 пациентов применялся тест MAST. Результаты теста: от 0 до 2 баллов – у 48%, от 3 до 5 баллов – у 22%, 6 баллов и более – у 30%. Учитывая результаты тестов CAGE и MAST в совокупности с данными анамнеза, клиническими данными (наличие абстинентного синдрома, алкогольного делирия и др.), выявлялись лица с признаками АЗ. Из 127 пациентов, у 34 достоверно определить алкогольный анамнез не удалось. Остальные пациенты разделены на 2 группы: I группа – 52 человека без признаков АЗ, II группа – 41 человек с признаками АЗ. Таким образом, признаки АЗ выявлены у 32,3% (95% ДИ 24,8–40,9) пациентов с ХГС. Учитывались биохимические показатели, а также уровень тромбоцитов и ИАТ, протромбиновый индекс (ПТИ), средний корпускулярный объем эритроцита (MCV). В группе лиц, имеющих АЗ, оказались значимо выше показатели билирубина ($p=0,004$), тимоловой пробы ($p=0,006$), АСТ ($p=0,0005$) и отношение АСТ/АЛТ ($p=0,0006$), ГГТП ($p<0,0001$), холестерина ($p=0,042$), ИАТ ($p=0,0006$), чем в группе контроля. Прогностическую значимость тестов CAGE и MAST, а также лабораторных показателей оценивали с помощью ROC-анализа. Тест CAGE при положительном ответе на более чем на 2 вопроса (3 и 4 балла) имеет хорошую прогностическую значимость для определения АЗ у пациентов с ХГС (ППК 0,957, 95% ДИ 0,889–0,989; чувствительность 82,5%, специфичность 100%). MAST также прогностически значим при 4 и более баллах (ППК 0,939; 95% ДИ 0,784–0,992;

чувствительность 84,2% и специфичность 100%). Из лабораторных показателей наибольшую прогностическую значимость (в порядке убывания) имеют ГГТП (ППК 0,76; 95% ДИ 0,65–0,85), АСТ (ППК 0,70; 95% ДИ 0,59–0,79), ИАТ (ППК 0,69; 95% ДИ 0,58–0,79), отношение АСТ/АЛТ (ППК 0,67; 95% ДИ 0,56–0,77), общий билирубин (ППК 0,67; 95% ДИ 0,56–0,77), MCV (ППК 0,65; 95% ДИ 0,50–0,78), тимоловая проба (ППК 0,65; 95% ДИ 0,54–0,75), холестерин (ППК 0,62; 95% ДИ 0,51–0,72). На основе применения опросников, клинических и лабораторных показателей разработан алгоритм диагностики алкогольной зависимости у пациентов с ХГС и другими хроническими заболеваниями печени.

Используя методику Каплана–Мейера, определялось время от заражения HCV до наступления исхода заболевания (развития ЦП классов В или С). У 50% наблюдаемых развился ЦП в течение 30 лет. Сравнивались кривые Каплана–Мейера в двух группах: без признаков АЗ (группа I, n=80) и с признаками АЗ (группа II, n=49). В I группе первый случай развития ЦП зарегистрирован через 16 лет после заражения, во II группе – уже через 8 лет. ЦП у половины пациентов развивается через 37 лет (I группа) и через 18 лет во II группе (логранговый критерий $z = -4,296$; $p = 0,00002$).

Качество жизни пациентов с хронической HCV-инфекцией

Были изучены показатели качества жизни (КЖ) в зависимости от стадии заболевания (хронический гепатит или ЦП) с помощью опросника SF-36. У пациентов с ХГС КЖ страдает умеренно. Большинство показателей по шкалам опросника были ниже, чем в контрольной группе, однако статистически значимое снижение показано лишь для двух шкал: физическое функционирование (PF, $p = 0,04$) и общее здоровье (GH, $p < 0,001$), а также интегральный показатель физического благополучия (ФБ, $p = 0,008$). У пациентов с ЦП снижены все показатели и физического, и эмоционального здоровья, как по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$), так и с пациентами с ХГС ($p < 0,001$). У мужчин снижаются показатели физического компонента здоровья (PF, RP, BP, GH, ФБ; $p < 0,05$), а женщины оценивают свое качество жизни ниже и в физическом (PF, RP, BP, GH, ФБ; $p < 0,05$), и в психологическом плане (VT, MN, ДБ; $p < 0,05$). Показатели физического благополучия (PF, RP, BP, ФБ) и душевного благополучия (VT, RE, MN, ДБ) у женщин ниже, чем у мужчин ($p < 0,01$).

Расчет эффективности медицинских технологий по предупреждению прогрессирования хронической HCV-инфекции

Рассмотрим экономические последствия естественного течения ХГС. Согласно официальной статистике (belstat.gov.by), в 2012 году доля внутреннего валового продукта на каждого работающего гражданина составила 115,222 млн белорусских рублей. Примем, что из 100 инфицированных HCV, ЦП разовьется у 20, в среднем возрасте 47 лет, а декомпенсация возникнет в возрасте 49 лет. Предположим, что утрата трудоспособности наступает с момента диагноза де-

компенсированного ЦП. Тогда у мужчин теряется 11 лет трудоспособного возраста, у женщин – 6. Таким образом, ущерб от 20 случаев ЦП (из которых по нашим данным 12 мужчин и 8 женщин) будет равен 20739,96 млн рублей. Если принять, что распространенность HCV-инфекции в Беларуси находится на уровне средневропейской (примерно 2% популяции, или 189300 чел.), ущерб составит 39260744,28 млн. рублей.

Проведены расчеты соотношения затраты/эффективность (стоимость одной ремиссии в результате достижения стойкого вирусологического ответа, СВО) в зависимости от генотипа вируса при использовании двух схем терапии: 1) ИФН+РБВ, 2) ПЭГ-ИФН- α 2а+РБВ (цены ноября 2013 г.). Схема 1: для генотипа 1 HCV: стоимость курса 7,91 млн. рублей, клиническая эффективность (СВО) – 31%, затрат на 1 ремиссию – 25,52 млн рублей; для генотипов 2 и 3: 3,96 млн рублей, 67% и 5,904 млн. рублей соответственно. Схема 2: для генотипа 1 HCV: стоимость курса 123,58 млн рублей, клиническая эффективность – 46%, затрат на 1 ремиссию – 268,66 млн рублей; для генотипов 2 и 3: 61,79 млн рублей, 79% и 78,22 млн рублей соответственно.

В белорусской популяции ХГС вызывается преимущественно 1 генотипом вируса – 67% (Еремин В.Ф. и др., 2010). В таком случае применение схемы 1 позволит достичь СВО у 43% пациентов. В среднем, затраты на проведение 1 курса терапии ИФН+РБВ с учетом генотипа составляют 6,607 млн рублей, а стоимость 1 ремиссии составляет 15,364 млн рублей. Данная стратегия позволит предотвратить 8,6 случаев ЦП на 100 пролеченных. Если из этих пациентов с ЦП доля мужчин – 5, а женщин – 3,6, то экономия составит 76,6 человеко-лет, или 8826,005 млн рублей. Для схемы 2: частота СВО – 57%, стоимость курса – 103,19 млн рублей, стоимость 1 ремиссии – 181,04 млн рублей, применение схемы предотвратит 11,4 случая ЦП на 100 пролеченных, сэкономив 11683,511 млн рублей.

Молекулярно-генетические механизмы патогенеза HCV-инфекции

Полиморфизм гена ИЛ-28В у пациентов с ХГС. Определена частота встречаемости SNP rs8099917: аллельный вариант ТТ был выявлен у 50,6% пациентов, TG – у 42,3%, GG – у 7,1%. Для SNP rs12979860 частота аллельных вариантов: 34,2% (CC), 53,4% (CT) и 12,4% (TT).

Среди пациентов с хронической HCV-инфекцией частота носительства мутантных аллелей G (SNP rs8099917) и T (SNP rs12979860) гена ИЛ-28В составила 25,5% и 39,1% соответственно, что выше, чем в Европейской популяции (15% и 27,7% соответственно, $p \leq 0,0001$). У пациентов с 1 генотипом HCV чаще встречаются мутантные аллели по rs8099917, чем у лиц с иными генотипами HCV (57,1% и 33,7%; $p=0,0005$), аналогично и для SNP rs12979860 (76,8% и 53,2%; $p=0,0002$). Повышенные уровни АЛТ у пациентов с ХГС чаще соответствовали варианту CC SNP rs12979860 по сравнению с вариантами CT и TT

($p=0,016$). Связи полиморфизма гена ИЛ-28В с прогрессированием заболевания (развитие выраженного фиброза/цирроза печени) не было выявлено ($p>0,5$).

Обследовано 119 пациентов, которые получали лечение препаратами ИФН и РБВ. Пациенты получали либо стандартный ИФН и РБВ (ИФН+РБВ) – 61 пациент (генотип 1 HCV был у 43), либо пегилированный ИФН и РБВ (ПЭГ-ИФН + РБВ) – 58 пациентов (генотип 1 HCV – у 42). Проанализирована частота СВО на лечение у пациентов с ХГС с различными аллельными вариантами SNP гена ИЛ-28В в зависимости от генотипа HCV: 1 генотип и 2/3 генотипы (таблица 1).

Таблица 1. – Частота СВО на противовирусное лечение у пациентов с ХГС с различными аллельными вариантами SNP гена ИЛ-28В в зависимости от генотипа HCV

SNP гена ИЛ-28В	Аллельные варианты	СВО, % (95% ДИ) пациенты с генотипом 1 HCV (n=85)	СВО, % (95% ДИ) пациенты с генотипами 2/3 HCV (n=34)
39743165T>G (rs8099917)	ТТ	17/32 (53,1%; 36,5–69,1)	16/22 (72,7%; 51,6–87,1)
	TG	9/46 (19,6%; 10,4–33,4)	7/11 (63,6%; 35,2–85,0)
	GG	0/7 (0%; 0–40,4)	1/1 (100%; 16,8–100)
39738787C>T (rs12979860)	СС	14/16 (84,6%; 62,7–97,8)	11/14 (78,6%; 51,7–93,2)
	СТ	12/55 (21,8%; 12,8–34,5)	11/17 (64,7%; 41,2–82,8)
	ТТ	0/14 (0%; 0–25,2)	2/3 (66,7%; 20,2–94,4)

Аллельные варианты SNP rs8099917 и SNP rs12979860 отражают эффективность лечения ХГС у лиц с 1 генотипом HCV. Шанс ответа при варианте ТТ (rs8099917) был выше, чем при вариантах TG и GG (отношение шансов ОШ=5,5; 95% ДИ 2,0–15,0). Среди пациентов с генотипами 2 или 3 статистически значимых различий не было выявлено (ОШ=1,3; 95% ДИ 0,3–5,8). Шанс ответа на лечение при варианте СС (rs12979860) намного выше, чем при иных вариантах (ОШ=26,7; 95% ДИ 6,1–116,6). Среди пациентов с генотипами 2 или 3 аллельные варианты SNP rs12979860 видимо не влияли на эффективность лечения (ОШ=1,8; 95% ДИ 0,4–8,1).

В дальнейшем сравнивалась эффективность лечения (СВО) только пациентов с 1 генотипом HCV в зависимости от вида применяемой терапии (ИФН+РБВ или ПЭГ-ИФН+РБВ, таблица 2).

Была проанализирована эффективность терапии при сочетании различных аллельных вариантов SNP rs8099917 и SNP rs12979860 у лиц с 1 генотипом HCV. Наилучшие результаты лечения (СВО 87,5%; 62,7–97,8) соответствовали сочетанию «благоприятных» вариантов ТТ и СС, соответственно. При сочетании гетерозиготных вариантов (TG и СТ) СВО составил 22,5% (95% ДИ 12,1–37,7). Сочетание ТТ (SNP rs8099917) и СТ (SNP rs12979860) приводит к СВО в 23,1% случаев (95% ДИ 7,5–50,9). Остальные варианты (соответственно ТТ+ТТ, TG+ТТ, GG+СТ, GG+ТТ) были малочисленны, СВО не был достигнут ни у одного из 14 пациентов.

Таблица 2. – Эффективность лечения пациентов с 1 генотипом HCV с различными аллельными вариантами SNP гена ИЛ-28В в зависимости от вида применяемой терапии

SNP гена ИЛ-28В	Аллельные варианты	СВО, %; 95% ДИ ИФН+РБВ (n=43)	СВО, %; 95% ДИ ПЭГ-ИФН+РБВ (n=42)
39743165T>G (rs8099917)	ТТ	8/15 (53,3%; 30,1–75,2)	9/17 (52,9%; 31,0–73,8)
	TG	2/22 (9,1%; 1,3–29,0)	7/24 (29,2%; 14,7–49,4)
	GG	0/6 (0%; 0–44,3)	0/1 (0%; 0–83,3)
39738787C>T (rs12979860)	СС	7/9 (77,8%; 44,3–94,7)	7/7 (100%; 59,6–100)
	СТ	3/25 (12,0%; 3,3–30,8)	9/30 (30,0%; 16,5–48,0)
	ТТ	0/9 (0%; 0–34,5)	0/5 (0%; 0–48,9)

Обследование на SNP rs12979860 и rs8099917 гена ИЛ-28В можно рекомендовать перед началом противовирусного лечения всем пациентам с генотипом 1 HCV в качестве прогностических факторов ответа на лечение. С этой целью предложена инструкция по применению «Способ прогноза эффективности интерферонотерапии хронического гепатита С на основе определения полиморфизмов гена интерлейкина-28В» [78].

Был проведен фармакоэкономический анализ «затраты – эффективность» с расчетом стоимости одной ремиссии, который проводился в зависимости от генотипа вируса при использовании двух схем терапии: 1) ИФН+РБВ, 2) ПЭГ-ИФН- α 2а+РБВ. Для снижения затрат на противовирусное лечение ХГС предложен алгоритм дифференцированного назначения препаратов ИФН+РБВ и ПЭГ-ИФН+РБВ, основанный на определении генотипа HCV и полиморфизма гена ИЛ-28В для лиц с 1 генотипом вируса (рисунок 2) [79].

Для лечения пациентов со 2 или 3 генотипами HCV применяется ИФН+РБВ на протяжении 24 недель (частота СВО по нашим данным 67%). Для пациентов с генотипом 1 HCV (встречаемость 67% среди лиц с ХГС) проведен расчет экономической эффективности определения SNP гена ИЛ-28В (SNP rs12979860). При «благоприятном» аллельном варианте СС (rs12979860; встречаемость 19% среди лиц с генотипом 1 HCV) предлагается применять ИФН+РБВ (частота СВО по нашим данным 78%). Для лиц с плохим прогнозом эффективности терапии (генотип 1, аллельные варианты СТ и ТТ, 81% из лиц с генотипом 1 HCV) следует использовать ПЭГ-ИФН+РБВ (частота СВО 26%). Средние затраты на 1 курс терапии – 69,069 млн рублей. Стоимость 1 ремиссии – 150,15 млн рублей. При использовании SNP rs8099917 у лиц с «благоприятным» вариантом ТТ (встречаемость 38% среди лиц с генотипом 1 HCV) рекомендуется применять ИФН+РБВ (частота СВО по нашим данным 53%). Для лиц с плохим прогнозом эффективности терапии (генотип 1, аллельные варианты TG и GG, 62% из лиц с генотипом 1 HCV) следует использовать

ПЭГ-ИФН+РБВ (частота СВО 28%). Средние затраты на 1 курс терапии – 55,188 млн рублей. Стоимость 1 ремиссии – 117,422 млн рублей.



Рисунок 2. – Алгоритм дифференцированного лечения ХГС

Для сравнения, если не использовать тестирование на SNP ИЛ-28В, а всем пациентам назначать лечение ПЭГ-ИФН+РБВ, с учетом распространенности генотипов HCV в РБ, средние затраты на курс терапии составят 103,192 млн рублей, СВО 56%, стоимость 1 ремиссии – 184,271 млн рублей. Таким образом, применение предложенного алгоритма приводит к снижению стоимости 1 ремиссии на 18,5% при использовании тестирования SNP rs12979860 и на 36,3% – при использовании SNP rs8099917.

Полиморфизм гена, кодирующего РНКазу L, при ХГС. У 84 пациентов с ХГС определялся полиморфизм 6552G>A (rs486907) гена РНКазы L. Генотип GG был выявлен у 25,0%, GA – у 58,3%, AA – у 16,7%. Отличий в частоте генотипа GG SNP 1385G>A гена РНКазы L у лиц с различной скоростью прогрессирования ХГС не выявлено ($\chi^2=1,56$; $p=0,21$). Полиморфизм 6552G>A не является прогностическим фактором ответа на терапию: ОШ=1,15 (0,24–5,54) у пациентов с генотипом GG по сравнению с генотипами GA или AA.

Мутации C282Y и H63D гена HFE у пациентов с хронической HCV-инфекцией. Среди обследованных нами 45 пациентов с ХГС у 28,9% пациентов имелись различные мутации: 2,2% гомозиготы по аллелю H63D, 22,2% гетерозиготы по аллелю H63D, 4,4% гетерозиготы по аллелю C282Y. Частота носительства мутантных аллелей H63D – 13,3%, C282Y – 2,2%.

Определение аллелей HLA-DRB1*1101 и HLA-DQB1*03 при хронической HCV-инфекции. Аллель HLA-DRB1*1101 был выявлен у 22,3% из 103 пациентов в группе ХГС и у 31,4% из 72 лиц контрольной группы. Аллель HLA-DQB1*03 был выявлен у 29,1% пациентов, и у 27,8% лиц контрольной группы. При наличии аллеля HLA-DQB1*03 у пациентов значения ИАТ были ниже ($Me=0,65$; 25–75% 0,49–1,68), чем без данного аллеля ($Me=1,42$; 25–75% 0,59–2,68), $p=0,029$.

Цитогенетический статус и кластогенные факторы при ХГС

Определялась частота хромосомных aberrаций у 14 пациентов с ХГС (2708 метафаз в анализе) и у 129 лиц контрольной группы (27917 метафаз). При ХГС отмечается увеличение общей генетической нестабильности, что выражается в значительном росте aberrаций и aberrантных клеток (4,26% и 5,14% соответственно) по сравнению с контрольной группой (2,23%, $p=0,006$ и 2,05, $p<0,001$, соответственно). Высокая частота aberrантных клеток обусловлена увеличением числа дицентрических и кольцевых хромосом, а также полиплоидных клеток (во всех случаях $p<0,01$).

При изучении кластогенности сывороток крови 25 пациентов с ХГС выявлено, что при ХГС по сравнению с группой контроля общая частота выявления микроядер и частота клеток с микроядрами в культуре immortalized кератиноцитов были значимо выше ($p=0,011$ и $p=0,004$ соответственно), чаще встречались клетки с одним микроядром ($p=0,001$) и двумя микроядрами ($p=0,009$). Таким образом, в сыворотке крови пациентов с ХГС присутствовали кластогенные факторы, вызывающие индукцию микроядер, что отражает мутагенный эффект HCV.

Основные субпопуляции лимфоцитов и уровни цитокинов при хронической HCV-инфекции

Проанализированы параметры клеточного иммунитета: относительные и абсолютные уровни CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов (CD3–/CD19+), активированных Т-лимфоцитов (CD3+/HLA-DR+), субпопуляции клеток CD3–CD16+, отношение CD4/CD8 у 67 пациентов с ХГС. Выявлены более высокие значения уровней В-лимфоцитов (CD3–/CD19+) в группе пациентов с более низкой вирусной нагрузкой HCV (до 600 000 ME/мл; $p=0,039$ для абсолютного количества В-лимфоцитов).

При HCV-ассоциированном ЦП уровни цитокинов ИФН- γ и ИЛ-1 α превышали аналогичные значения в группе ХГС ($p=0,011$ и $p=0,037$, соответствен-

но). Исследованы уровни цитокина ИЛ-1 α (Ме; 25–75%) у 34 пациентов до начала противовирусного лечения в зависимости от СВО. В группе пациентов с 3а генотипом HCV, достигших СВО, выявлены более высокие уровни ИЛ-1 α (Ме 95,94 пг/мл; 12,12–107,45) по сравнению с лицами, не ответившими на терапию (Ме 21,11 пг/мл; 7,78–32,71) ($p=0,039$). Установлено, что при значениях ИЛ-1 $\alpha \leq 57,76$ пг/мл можно прогнозировать отсутствие СВО (чувствительность 100%, специфичность 71,4%, $p=0,008$).

Параметры специфического гуморального иммунитета

В зависимости от спектра антител к отдельным белкам HCV: Core, NS3, NS4 и NS5 сравнивались параметры клеточного иммунитета. У пациентов с полным спектром антител ($n=32$) выше относительные ($p=0,015$) и абсолютные ($p=0,017$) уровни CD8 $^+$ и ниже иммунорегуляторный индекс ($p=0,013$). У лиц, имеющих анти-NS5 ($n=39$), уровни ИФН- γ (Ме 12,0 пг/мл) были значимо ниже, чем у лиц, не имеющих этих антител ($n=32$; Ме 19,1 пг/мл, $p=0,022$).

Из 161 пациента у 48,4% (95% ДИ 40,9–56,1) обнаружены положительные анти-HCV IgM. Среди них РНК HCV выявлена у 97,4%, у лиц с отрицательными анти-HCV IgM – у 81,9% ($p = 0,002$). Анти-HCV IgM в качестве маркера вирусной репликации в сравнении с ПЦР имеет чувствительность 52,8% (95% ДИ 44,3–61,2%), специфичность – 88,2% (95% ДИ 63,5–98,2%). Уровни вирусной нагрузки и АЛТ у лиц с положительными анти-HCV IgM были также выше ($p=0,026$ и $p=0,009$ соответственно). Количество анти-HCV IgM (коэффициент позитивности в ИФА, КП) прямо коррелирует с уровнями вирусной нагрузки ($rs=0,37$, $p<0,001$) и АЛТ ($rs=0,23$; $p=0,025$). С помощью ROC-анализа установлено, что КП анти-HCV IgM $>1,63$ имеет чувствительность 38,0% и специфичность 94,1% в выявлении виремии, а при КП $> 2,1$ специфичность теста составляет 100%. При КП $> 3,77$ чувствительность теста в выявлении высокой виремии ($>500\ 000$ МЕ/мл) составляет 50%, специфичность – 75,9%; в то же время при КП $>6,74$ специфичность теста составляет 100%.

Гепатит С и HIV-инфекция

Особенности клинических проявлений гепатита С у HIV-инфицированных пациентов. Среди 353 взрослых HIV-инфицированных лиц, находящихся на диспансерном учете, маркеры HCV-инфекции были выявлены у 75,4% (95% ДИ 70,5–79,7%) пациентов. Среди пациентов с ко-инфекцией преобладают мужчины (68%; $p<0,001$), лица с внутривенным путем заражения (78,1%; $p<0,001$), поступающие на учет в более поздние сроки HIV-инфекции с более низкими значениями CD4 клеток ($p=0,013$). Наблюдалось 193 человека с ко-инфекцией HCV и HIV, длительность наблюдения от момента выявления HIV от 0 до 16 лет (Ме = 8), всего прослежено 1310 человеко-лет. Возраст выявления маркеров HIV составил от 15 до 55 лет, Ме 25 лет (25–75% 21–29). Получали АРТ 51,3% пациентов. Злоупотребляли алкоголем 44,1% пациентов

(95% ДИ 34,9–53,8) из 102 лиц с достоверным алкогольным анамнезом. Значения АЛТ повышены лишь у 60,9% (95% ДИ 53,9–67,6) лиц с ко-инфекцией.

Заразились НІV вследствие внутривенного употребления наркотиков 72,5% чел. (95% ДИ 65,8–78,4), половым путем – 17,1% (95% ДИ 12,4–23,1). Возраст предположительного заражения НІV составлял от 14 до 54 лет (n=131), медиана 22 года (25–75% 19–26). От заражения до установления диагноза НІV-инфекции (n = 130) проходило от 0 до 15 лет. Согласно методу Каплана-Мейера, половина пациентов была диагностирована в течение 2 лет от момента заражения. Возраст пациентов на момент установления диагноза НСV-инфекции составлял от 17 до 55 лет (Me=28 лет, 25–75% 24–32). В большинстве случаев диагноз НІV-инфекции был выставлен раньше, чем НСV-инфекции – у 61,2% (95% ДИ 53,6–68,3), обе инфекции выявлены одновременно у 26,1% (95% ДИ 19,9–33,3). У 18 пациентов имелся клинический диагноз «цирроз печени», который был диагностирован от 3 до 14 лет, Me 8 лет (5,5–11) от момента верификации НІV-инфекции и от 2 до 12 лет, Me 4 года (3–8) со времени установления диагноза НСV-инфекции.

Влияние гепатита С на прогрессирование НІV-инфекции. Были обследованы 124 пациента: 64 пациента с ко-инфекцией (1 группа), 33 – с НІV-инфекцией (2 группа) и 27 – с ХГС (3 группа). Пациенты 1 и 2 групп не различались по стадиям НІV-инфекции и по иммунологическим категориям. Статистически значимых различий уровней CD3, CD4, CD8 и соотношения CD4/CD8 в группах НСV/НІV и НІV выявлено не было ($p>0,2$). Различий вирусной нагрузки РНК НІV у лиц 1 и 2 групп не выявлено ($p=0,67$). В процессе АРТ уровень CD4 клеток увеличился у 70,3% лиц с ко-инфекцией и у 81,8% пациентов 2 группы ($p=0,22$). Средний прирост клеток за период наблюдения 5–18 месяцев (медиана 10 мес.) в 1 группе (M±m) – $105,1\pm 55,1$ кл/мкл ($p<0,05$), во 2 группе – $162,1\pm 81,0$ кл/мкл ($p<0,05$), различия между группами статистически не значимы ($p>0,05$).

Влияние антиретровирусной терапии (АРТ) на течение гепатита С. Изучено влияние ХГС на время наступления летального исхода от момента начала АРТ у 353 НІV-инфицированных пациентов, получающих АРТ. С помощью метода Каплана-Мейера установлено, что пациенты с ХГС в течение первого года от старта АРТ умирали раньше, чем пациенты без ХГС (логранговый критерий $z=3,28$, $p=0,001$). Установлена более частая иммунологическая неэффективность АРТ через 12–15 месяцев от ее старта у лиц с ХГС ($\chi^2=4,52$; $p=0,03$), частота вирусологического ответа на АРТ в группах была сопоставимой ($\chi^2=1,05$; $p=0,31$).

С помощью унивариантной логистической регрессии (ОШ и 95% ДИ) выявлена ассоциация развития гепатотоксичности в первые 12 месяцев лечения антиретровирусными препаратами с мужским полом (ОШ=4,65; 95% ДИ

1,17–6,26; $p=0,031$), внутривенным путем заражения (ОШ=2,92; 95% ДИ 1,24–6,89; $p=0,022$), наличием ХГС (ОШ=4,95; 95% ДИ 1,58–15,48; $p=0,007$).

Оценка фиброза печени и прогрессирование ХГС при HIV-инфекции.

У 191 пациента исследованы непрямые маркеры фиброза печени: ИАТ и FIB-4. Оценка выраженности фиброза печени по значениям двух индексов совпала в 67,5%. В динамике обследованы 103 пациента, второе обследование проводилось через 6–83 мес., Ме 36 мес. (21–58). Начальные значения индексов ИАТ (Ме 0,28; 25–75% 0,18–0,51) и FIB-4 (Ме 0,49; 25–75% 0,29–0,89) в динамике значительно повысились: ИАТ (Ме 0,53; 25–75% 0,29–1,00; $p < 0,0001$) и FIB-4 (Ме 1,12; 25–75% 0,60–1,75; $p < 0,0001$). Выявлена прямая корреляционная связь между временем до второго обследования и разницей в значениях индексов ИАТ ($r_s=0,33$; $p=0,001$) и FIB-4 ($r_s=0,34$; $p<0,001$).

При динамическом наблюдении прогрессирование фиброза печени удалось выявить у 26,8% обследованных. Время от момента диагноза HIV-инфекции до впервые установленного диагноза ЦП и/или повышения в динамике индексов фиброза свыше уровня ИАТ $>1,5$ и FIB-4 $>3,25$ проанализировано с помощью метода Каплана–Мейера. Прогрессия до выраженного фиброза или ЦП отмечена у половины пациентов в пределах 14 лет наблюдения. У HIV-инфицированных лиц с быстрой прогрессией фиброза печени статистически значимо чаще встречаются уровни CD4 клеток < 200 /мкл (ОШ=3,05; 95% ДИ 1,2–7,7) и связанное с этим более частое назначение АРТ (ОШ=3,62; 95% ДИ 1,4–9,4).

Лечение гепатита С у лиц с HIV-инфекцией. В 2007–2009 гг. в Гомельской области комбинированную терапию ХГС (ИФН+РБВ) получали 13 HIV-инфицированных пациентов. Ранний вирусологический ответ наблюдался у 76,9%, ответ в конце лечения – у 46,2%. Из 12 пациентов, наблюдаемых в динамике, СВО сохранялся у 4 пациентов (33,3%). За период 2008–2012 годов 15 пациентов были пролечены препаратами ПЭГ-ИФН и РБВ в течение 48 недель. У 4 пациентов курс лечения был отменен досрочно. Всего из 15 пациентов ранний вирусологический ответ был у 86,7%, вирусологический ответ в конце лечения – у 71,4%, СВО – у 63,6%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Структура циркуляции субтипов HCV в Гомельском регионе включает субтипы 1b (52,1%), 3a (36,2%), 2a (5,3%), 1a (2,1%), а также микст из двух или трех субтипов у 4,3%, из них 2a+3a (2,1%), 1b+3a (1,1%), 1b+2a+3a (1,1%). Нуклеотидная последовательность локуса NS3 субтипа 1b HCV от пациентов с ХГС имеет высокую степень полиморфизма и отличается от изолятов HCV из базы

данных GenBank, составляющих отдельный кластер. Уникальные нуклеотидные последовательности трех штаммов депонированы в GenBank (HQ588343.1; HQ588344.1; HQ588345.1). Вирус гепатита С обладает высокой мутагенностью. У пациентов с ХГС выявлена дестабилизация генома, характеризующаяся большой частотой aberrаций хромосом (4,3%, $p=0,006$) за счет увеличения числа дицентрических и кольцевых хромосом ($p<0,001$), а также полиплоидных клеток ($p<0,001$). Сыворотка пациентов с ХГС содержит кластогенные факторы, вызывающие образование микроядер в культуре иммортализованных кератиноцитов (частота клеток с микроядрами 13,5%, $p=0,004$). Заболеваемость ОВГС в Гомельском регионе за 1997–2012 гг. составила 2,0 на 100 000 населения и характеризовалась тенденцией к снижению (темп прироста $-4,9\%$), превышая до 2006 года среднереспубликанскую (1,4 на 100 000 населения). За этот же период с 1997 по 2012 гг. в регионе отмечался ежегодный рост регистрации ХГС с темпом прироста $+8,1\%$. В современных условиях мужчины заражаются HCV-инфекцией в более молодом возрасте (27,6 лет), чем женщины (32,3 года; $p=0,009$), заражение в результате внутривенного наркопотребления установлено у 17,9% (95% ДИ 10,9–28,0). Согласно разработанной математической модели, в течение первого года после заражения выявляется 29,8% пациентов, а выявление 50% инфицированных происходит в течение первых 5 лет после заражения [1, 11, 13, 29, 30, 35, 36, 42, 45, 59, 61, 64, 69, 71, 74].

2. Доля HCV-ассоциированных ЦП составляет 38,9% (95% ДИ 33,4–44,7) от всех пациентов с ЦП и 90,2% (95% ДИ 83,5–94,4) среди вирус-ассоциированных ЦП. HCV-ассоциированный ЦП формируется в трудоспособном возрасте (68,2%; 95% ДИ 60,4–75,2) и диагностируется впервые в среднем возрасте 47,1 лет (95% ДИ 45,2–49,0), чаще у мужчин (58,2%; 95% ДИ 51,2–64,8). Декомпенсация ЦП в среднем развивается в возрасте 49,2 лет (95% ДИ 46,2–52,2). Среди пациентов с установленным впервые диагнозом ЦП на фоне HCV-инфекции у 54,7% лиц (95% ДИ 44,2–64,8) развивается декомпенсация ЦП в течение первого года с момента его выявления. У 2,6% (95% ДИ 0,9–6,0) пациентов в возрасте от 55 до 76 лет на фоне ЦП за время наблюдения сформировалась ГЦК. С помощью разработанного комплексного подхода, включающего применение опросников CAGE и MAST, учет клинических данных и лабораторных показателей (патент UA 65396), признаки алкогольной зависимости выявлены у 32,3% (95% ДИ 24,8–40,9) пациентов с ХГС и у 49,0% лиц с ЦП (95% ДИ 41,2–56,9). У пациентов с зависимостью от алкоголя наблюдается более быстрое прогрессирование болезни: у половины пациентов декомпенсированный ЦП формируется в течение 20 лет после заражения HCV, без зависимости – через 35 лет ($p=0,0005$). Причинами смерти пациентов с ЦП являются печеночная или печеночно-почечная недостаточность (64,1%; 95% ДИ 48,4–77,3), кровотечения из ВРВ (25,6%; 95% ДИ 14,4–41,2), ГЦК (10,3%; 95% ДИ

3,5–24,2). Среди умерших в стационаре преобладают мужчины (61,5%; 95% ДИ 45,9–75,1), у 69% (95% ДИ 50,6–82,9) имеются признаки алкогольной зависимости, HIV-инфицированными были 15,4% (95% ДИ 6,9–30,1). Показатели физического благополучия (PF, RP, VR, ФБ) и душевного благополучия (VT, RE, MN, ДБ) у женщин с ХГС ниже, чем у мужчин ($p < 0,01$). У пациентов с ЦП снижены все показатели и физического, и эмоционального здоровья, как по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$), так и с пациентами с ХГС ($p < 0,001$). HIV-инфицированные пациенты с ХГС в течение первого года от старта АРТ умирают раньше, чем пациенты без ХГС ($p = 0,001$), у них чаще развивается иммунологическая неэффективность АРТ ($p = 0,03$) и проявления гепатотоксичности ($p = 0,007$) [1, 9, 12, 14, 15, 16, 20, 22, 24, 26, 38, 39, 41, 43, 44, 46, 50, 66, 67, 70, 72, 76, 77, 81, 84].

3. Разработан способ определения наличия и степени выраженности фиброза печени у пациента с ХГС на основе уровней индексов АСТ/АЛТ и АСТ/тромбоциты (ИАТ), тромбоцитов, АСТ (патент на изобретение № 18589). При значениях ИАТ $< 0,533$ (ППК 0,959, 95% ДИ 0,904–0,988), АСТ \leq верхняя граница нормы АСТ (ППК 0,922, 95% ДИ 0,855–0,964), тромбоцитов $> 180 \cdot 10^9/\text{л}$ (ППК 0,88, 95% ДИ 0,804–0,934), АСТ/АЛТ ≤ 1 (ППК 0,858, 95% ДИ 0,778–0,917) определяют отсутствие фиброза, или минимальный фиброз (Ф0–Ф1). При наличии двух и более из следующих показателей: индекс АСТ/тромбоциты $> 0,533$, АСТ $>$ верхняя граница нормы АСТ, тромбоциты $< 180 \cdot 10^9/\text{л}$, АСТ/АЛТ > 1 определяют наличие выраженного фиброза (Ф2–Ф4) с чувствительностью 90,5% и специфичностью 93,6%. Циррозу печени (Ф4) соответствуют значения ИАТ $> 0,974$ (ППК 0,955, 95% ДИ 0,898–0,985), уровень тромбоцитов $< 126 \cdot 10^9/\text{л}$ (ППК 0,925, 95% ДИ 0,859–0,967), АСТ/верхняя граница нормы АСТ $> 1,5$ (ППК 0,906, 95% ДИ 0,836–0,953), АСТ/АЛТ $> 1,21$ (ППК 0,863, 95% ДИ 0,784–0,921). Неинвазивная оценка выраженности фиброза печени в динамике в среднем через 36 месяцев при HCV/HIV ко-инфекции позволяет выявить рост непрямых маркеров фиброза: ИАТ ($p = 0,001$) и FIB-4 ($p < 0,001$). При динамическом наблюдении развитие выраженного фиброза или цирроза печени определено у 26,8% обследованных, у половины из которых это происходит в пределах 14 лет наблюдения. У HIV-инфицированных лиц с быстрой прогрессией фиброза печени статистически значимо чаще встречаются значения CD4 клеток менее 200/мкл (ОШ=3,05; 95% ДИ 1,2–7,7) и связанное с этим более частое назначение АРТ (ОШ=3,62; 95% ДИ 1,4–9,4) [1, 18, 20, 47, 73, 83].

4. С помощью разработанной иммуноферментной тест-системы на основе рекомбинантных и синтетического полипептидов HCV (патент на полезную модель № 3779) установлена частота выявления антител к отдельным белкам HCV. Так, антитела к Core-протеину (анти-Core) выявлены у 98,9% пациентов, анти-NS3 – у 96,3%, анти-NS4 – у 96,0%, анти-NS5 – у 58,1%. У большинства

обследованных с ХГС (90,6%) одновременно выявлялись антитела к Core, NS3 и NS4-белкам HCV. В группе пациентов с полным спектром антител (core+, NS3+, NS4+, NS5+) значимо выше относительные и абсолютные уровни CD8+ ($p=0,015$ и $p=0,017$ соответственно) и ниже иммунорегуляторный индекс ($p=0,013$). Выявлено, что у лиц, имеющих анти-NS5, снижены уровни ИФН- γ в сыворотке крови ($p=0,022$) и наблюдается более низкий ответ на противовирусную терапию ($p=0,038$), в сравнении с лицами, не имеющими этих антител. Для пациентов с 3а генотипом HCV уровень ИЛ-1 $\alpha \geq 57,8$ пг/мл перед началом терапии позволяет прогнозировать СВО (патент на изобретение № 17965). Анти-HCV IgM были обнаружены у 48,4% (95% ДИ 40,9–56,1) пациентов. Их наличие ассоциируется с большей частотой выявления РНК HCV ($p=0,002$), более высокой вирусной нагрузкой ($p=0,026$), более высокими значениями АЛТ ($p=0,009$). В сравнении с результатами ПЦР, чувствительность теста на определение HCV равна 52,8% (95% ДИ 44,3–61,2%), специфичность – 88,2% (95% ДИ 63,5–98,2%). Количество анти-HCV IgM (коэффициент позитивности в ИФА тест-системе) прямо коррелирует с уровнями вирусной нагрузки ($r_s=0,37$, $p<0,001$) и АЛТ ($r_s=0,23$; $p=0,025$) [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 17, 33, 34, 37, 48, 49, 53, 57, 58, 60, 63, 65, 68, 75, 80, 82].

5. Среди пациентов с хронической HCV-инфекцией частота выявления носительства мутантных аллелей гена ИЛ-28В G (SNP rs8099917) и T (SNP rs12979860) выше ($p \leq 0,0001$), чем в европейской популяции. У пациентов с 1 генотипом HCV чаще встречаются мутантные аллели для rs8099917 ($p=0,0005$) и rs12979860 ($p=0,0002$). У лиц с генотипом CC (SNP rs12979860) по сравнению с генотипами CT и TT значения АЛТ были выше ($p=0,016$). Впервые в популяции белорусских пациентов с ХГС установлена частота встречаемости полиморфизма гена РНКазы L (SNP 1385G>A), мутаций гена HFE и аллелей HLA-DRB1*1101 и HLA-DQB1*03. Так, для SNP 1385G>A гена РНКазы L генотип GG встречается с частотой 25,0%, GA – 58,3%, AA – 16,7%. Мутантные аллели гена HFE (C282Y и H63D) выявлены у 28,9% (95% ДИ 17,6–43,5) лиц с хронической HCV-инфекцией, частота носительства мутантных аллелей H63D – 13,3%, C282Y – 2,2%. Аллель HLA-DRB1*1101 выявляется с частотой 22,3% (95% ДИ 15,3–31,3), HLA-DQB1*03 – у 29,1% (95% ДИ 21,2–38,6) пациентов с ХГС. Носительство аллеля HLA-DQB1*03 ассоциируется с меньшей выраженностью фиброза печени ($p=0,029$) [1, 8, 19, 21, 23, 27, 28, 31, 32, 51, 52, 54, 55, 62, 78, 79].

6. Полиморфизм гена ИЛ-28В (SNP rs8099917 и rs12979860) определяет эффективность противовирусного лечения стандартным или пегилированным интерфероном альфа в сочетании с РБВ у пациентов с 1 генотипом HCV. У них в зависимости от варианта rs8099917 частота СВО на терапию ИФН+РБВ составляет: 53,3% (TT), 9,1% (TG) и 0% (GG); при использовании схемы

ПЭГ-ИФН+РБВ – 52,9%, 29,2% и 0% соответственно. В зависимости от варианта SNP rs12979860 частота СВО на схему ИФН+РБВ при 1 генотипе HCV составляет: 77,8% (CC), 12,0% (CT) и 0% (TT); на схему ПЭГ-ИФН+РБВ – 100%, 30,0% и 0% соответственно. Наилучшие результаты лечения (СВО 87,5%; 62,7–97,8) достигнуты при сочетании «благоприятных» вариантов TT (rs8099917) и CC (rs12979860). При сочетании гетерозиготных вариантов (TG и CT) СВО составляет 22,5% (95% ДИ 12,1–37,7), а при сочетании TT и CT – 23,1% (95% ДИ 7,5–50,9). На основе комплексной оценки генотипа HCV и полиморфизма гена ИЛ-28В (SNP rs8099917 и SNP rs12979860) предложена оптимизированная схема назначения противовирусных препаратов при ХГС [1, 2, 19, 23, 25, 28, 31, 32, 40, 52, 54, 55, 56, 57, 65, 75, 78, 79].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Тестирование полиморфизма гена ИЛ-28В (SNP rs8099917 и rs12979860) имеет высокую прогностическую ценность в качестве предиктора ответа на терапию препаратами интерферона и поэтому рекомендуется к внедрению повсеместно, где проводится лечение пациентов с ХГС (Инструкция по применению министерства здравоохранения Республики Беларусь № 019-0213). Результаты исследования внедрены в учебный процесс в ГомГМУ, в практику работы ГОИКБ и городской инфекционной больницы г. Минска [1, 23, 27, 28, 31, 52, 54, 55, 78].

2. Разработан алгоритм назначения противовирусной терапии пациентам с хроническим вирусным гепатитом С на основе комплексной оценки генотипа вируса гепатита С и полиморфизма гена интерлейкина-28В (Инструкция по применению министерства здравоохранения Республики Беларусь № 136-1114). Применение предложенного алгоритма приводит к снижению стоимости 1 ремиссии на 18,5% при использовании тестирования SNP rs12979860 и на 36,3% – SNP rs8099917. Результаты исследования внедрены в учебный процесс в ГомГМУ, в практику работы ГОИКБ и городской инфекционной больницы г. Минска [32, 79].

3. Способ ранней диагностики алкогольной зависимости у пациентов с хроническим гепатитом С и другими хроническими заболеваниями печени (Инструкция по применению министерства здравоохранения Республики Беларусь № 067-0610, патент Украины на полезную модель № 65396) может применяться в лечебных учреждениях инфекционного и гастроэнтерологического профиля, что позволит выявить лиц с признаками алкогольной зависимости, своевременно скорректировать лечебные мероприятия. Способ внедрен в учебный процесс на трех кафедрах ГомГМУ и в трех лечебных учреждениях: городского, областного и республиканского подчинения [1, 12, 14, 39, 46, 66, 77, 81, 84].

4. Разработана отечественная иммуноферментная тест-система, подтверждающая выявление антител к HCV (патент на полезную модель № 3779), с помощью которой определяют отдельно антитела к Core, NS3, NS4, NS5 белкам HCV. Были проведены клинические испытания и регистрация тест-системы (технические условия ТУ ВУ 400022681.003-2006). Отработаны подходы к созданию иммуноферментных тест-систем на основе рекомбинантных и синтетического полипептидов. Тест-систему можно использовать для контроля качества работы лабораторий, скрининга в группах риска, специфической диагностики HCV-инфекции, подтверждения положительных результатов на антитела к HCV, а также для прогнозирования эффективности интерферонотерапии (Инструкция по применению министерства здравоохранения Республики Беларусь № 013-0407; результаты внедрены в ГОИКБ) [1, 2, 3, 6, 57, 60, 63, 65, 75, 80].

5. Метод прогнозирования вероятности неблагоприятных исходов у HIV-инфицированных пациентов, включая лиц с HCV/HIV ко-инфекцией, на фоне антиретровирусной терапии (Инструкция по применению министерства здравоохранения Республики Беларусь № 002-0109) позволяет определить вероятность летального исхода в течение 12 месяцев от начала антиретровирусной терапии. Это необходимо для разработки мероприятий, снижающих риск летального исхода, а также планирования затрат на медицинское обслуживание HIV-инфицированных пациентов в целом. Метод внедрен в практику работы ГОИКБ и Речицкой центральной районной больницы [1, 9, 76].

6. Расчет не прямых маркеров фиброза печени является простым и доступным методом, позволяющим оценить выраженность фиброза у пациентов с ХГС. На основании граничных значений уровней тромбоцитов, АСТ и АЛТ, а также их соотношений определяется выраженный фиброз и цирроз печени. Способ определения наличия и степени выраженности фиброза печени у пациента с хроническим гепатитом С (патент на изобретение № 18589) внедрен в практику ГОИКБ [1, 18, 47, 73, 83].

7. Рассчитан экономический ущерб от HCV-инфекции в масштабах РБ. При ХГС развитие декомпенсированного ЦП с утратой трудоспособности ведет к убыткам в размере как минимум 20,7 млрд рублей на 100 пациентов с ХГС, или 39,2 трлн рублей на всю популяцию лиц с HCV-инфекцией в Беларуси. Курс лечения ИФН+РБВ (стоимость 6,6 млн рублей) приводит к излечению 43% человек, а ПЭГ-ИФН+РБВ (стоимость 103,2 млн рублей) – 57% пролеченных. Применение противовирусной терапии предотвращает случаи развития ЦП (8,6 и 11,4 соответственно), что приведет к значительной экономии (8,8 млрд и 11,7 млрд рублей на 100 пролеченных соответственно). В целях снижения затрат системы здравоохранения предлагается использовать дифференцированный подход для пациентов с различными генотипами вируса и полиморфизмом ИЛ-28В для 1 генотипа HCV, применяя «стандартные» интерфероны и РБВ для

пациентов с предикторами стойкого ответа на лечение. Данная стратегия может позволить излечить 46% пациентов с ХГС в белорусской популяции, сэкономив как минимум 2735,4 млрд рублей на профилактике неблагоприятных исходов заболевания [1, 25].

8. Монография «Гепатит С вирусная инфекция (диагностика, структура клинических проявлений и исходов, молекулярно-генетические и иммунные механизмы патогенеза, лечение в современных условиях)» (М., Новое знание, 2014 г.) дополняет имеющуюся информационную базу новыми результатами исследования, которые могут быть использованы в практической деятельности врачами инфекционистами, гастроэнтерологами, специалистами в области лабораторной диагностики, а также в обучении аспирантов и студентов медицинских вузов [1].

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ

Монография

1. Мицура, В.М. Гепатит С вирусная инфекция (диагностика, структура клинических проявлений и исходов, молекулярно-генетические и иммунные механизмы патогенеза, лечение в современных условиях) / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, С.В. Жаворонок. – М: Новое знание, 2014. – 302 с.

Статьи в журналах

2. Определение антител к NS5 белку вируса гепатита С (НСV) и антител к НCV класса IgM для прогноза эффективности интерферонотерапии хронического гепатита С / В.М. Мицура, С.В. Жаворонок, Е.Л. Красавцев, А.П. Демчило, А.-Х. Аль-Шаби, И.Л. Павлович // Проблемы здоровья и экологии. – 2005. – № 2. – С. 27–31.

3. Методические подходы к созданию отечественных диагностических тест-систем для выявления спектра антител к вирусу гепатита С / С.В. Жаворонок, Е.В. Воропаев, А.-Х. Аль Шаби, В.М. Мицура, А.В. Воропаева // Проблемы здоровья и экологии. – 2005. – № 2. – С. 126–130.

4. Уровни некоторых цитокинов в сыворотке крови и спектр антител к вирусу гепатита С у больных хроническим гепатитом С / В.М. Мицура, А.П. Демчило, Е.Л. Красавцев, С.В. Жаворонок, А.-Х. Аль-Шаби // Проблемы здоровья и экологии. – 2006. – № 4. – С. 34–39.

5. Применение иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной реакции (ПЦР) для диагностики гепатит С-вирусной (НСV-) инфекции / В.М. Мицура, О.В. Пантелеева, С.В. Жаворонок, Е.Л. Красавцев, И.Л. Павлович, А.В. Воропаева, А.-Х. Аль-Шаби // Проблемы здоровья и экологии. – 2006. – № 4. – С. 131–134.

6. Клиническая апробация иммуноферментной тест-системы, подтверждающей выявление антител к вирусу гепатита С / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, С.В. Жаворонок, А.-Х. Аль-Шаби, А.В. Воропаева // Проблемы здоровья и экологии. – 2007. – № 2. – С. 51–56.

7. Мицура, В.М. Содержание цитокинов в сыворотке крови больных хроническим гепатитом С при интерферонотерапии / В.М. Мицура, С.В. Жаворонок, Е.Л. Красавцев // Медицинская панорама. – 2007. – № 4. – С. 14–16.

8. Частота выявления мутаций С282У и Н63D гена НFE у больных хроническими гепатитами и циррозами печени различной этиологии / В.М. Мицура, Е.Л. Красавцев, Е.В. Воропаев, О.Ю. Баранов, И.В. Пальцев, А.Л. Калинин // Проблемы здоровья и экологии. – 2008. – № 2. – С. 56–62.

9. Прогнозирование вероятности летального исхода у ВИЧ-инфицированных пациентов на фоне антиретровирусной терапии / Е.И. Козорез, С.В. Жаво-

ронок, В.М. Мицура, Е.Л. Красавцев // Проблемы здоровья и экологии. – 2009. – № 2. – С. 100–105.

10. Взаимосвязь параметров клеточного иммунитета у больных хроническим гепатитом С с различными генотипами вируса гепатита С (HCV) и вирусной нагрузкой / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, О.Ю. Баранов, А.Н. Кондрачук // Проблемы здоровья и экологии. – 2009. – № 2. – С. 105–110.

11. Мицура, В.М. Значение определения генотипов вируса гепатита С и вирусной нагрузки у больных хроническим гепатитом С / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, А.В. Воропаева // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. – 2009. – № 2. – С. 94–98.

12. Мицура, В.М. Особенности клинического течения хронического вирусного гепатита С у больных с алкогольной зависимостью / В.М. Мицура // ARS medica. – 2009. – № 8. – С. 61–67.

13. Гепатит С-вирусная инфекция в Гомельской области: современная эпидемиологическая характеристика / В.М. Мицура, А.Н. Волченко, И.Ф. Салажкова, М.Н. Стародубцева // Проблемы здоровья и экологии. – 2010. – № 1. – С. 116–122.

14. Мицура, В.М. Комплексный скрининг алкогольной зависимости среди контингента больных хроническим вирусным гепатитом С / В.М. Мицура, И.М. Сквиря // Вісник психіатрії та психофармакотерапії. – 2010. – № 1. – С. 55–59.

15. Мицура, В.М. Алгоритм диагностики алкогольной зависимости у пациентов с хроническими заболеваниями печени / В.М. Мицура, И.М. Сквиря // Здоровоохранение. – 2010. – № 9. – С. 65–69.

16. Мицура, В.М. Качество жизни пациентов с хронической HCV-инфекцией / В.М. Мицура // Проблемы здоровья и экологии. – 2010. – № 3. – С. 25–30.

17. Красавцев, Е.Л. Роль цитокинов в прогнозировании эффективности лечения больных хроническим гепатитом С / Е.Л. Красавцев, В.М. Мицура // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. – 2011. – № 1. – С. 103–108.

18. Мицура, В.М. Оценка выраженности фиброза печени у пациентов с хроническим гепатитом С, роль непрямых маркеров фиброза / В.М. Мицура // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. – 2011. – № 2. – С. 87–92.

19. Полиморфизм генов интерлейкина-28b и клиническое значение его выявления у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, О.В. Осипкина, С.В. Жаворонок // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2012. – № 2. – С. 86–97.

20. Мицура, В.М. Клиническое течение гепатит С- вирусной инфекции у ВИЧ-инфицированных пациентов / В.М. Мицура, С.В. Жаворонок, Е.И. Козорез // Медицинский журнал. – 2012. – № 4. – С. 67–70.

21. Клиническое значение аллелей HLA-DRB1*1101 и HLA-DQB1*03 при гепатит С-вирусной инфекции / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, С.В. Жаворонок, О.В. Осипкина, О.Ю. Баранов // Медицинский журнал. – 2013. – № 3. – С. 11–15.

22. Мицура, В.М. HCV-ассоциированный цирроз печени: клинические проявления и причины неблагоприятных исходов / В.М. Мицура // Клиническая инфектология и паразитология. – 2013. – № 3. – С. 75–82.

23. Значение полиморфизма гена интерлейкина-28В у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С / В.М. Мицура, С.В. Жаворонок, Е.В. Воропаев, О.В. Осипкина, Д.В. Терешков // Здоровоохранение. – 2013. – № 10. – С. 4–8.

24. Мицура, В.М. Клиническая характеристика HCV-ассоциированного цирроза печени, скорость прогрессирования заболевания и влияние алкоголя / В.М. Мицура // Медицинский журнал. – 2013. – № 4. – С. 79–82.

25. Мицура, В.М. Сравнительный клинико-экономический анализ протоколов противовирусного лечения хронического гепатита С в Республике Беларусь / В.М. Мицура, С.В. Жаворонок // Рецепт. – 2014. – № 1. – С. 32–37.

26. Мицура, В.М. Гепатит С у ВИЧ-инфицированных пациентов: клинико-лабораторная характеристика и лечение / В.М. Мицура, С.В. Жаворонок, Е.И. Козорез // Медицинский журнал. – 2014. – № 1. – С. 89–93.

27. Мицура, В.М. Значение некоторых генетических факторов для прогноза эффективности противовирусного лечения хронического гепатита С / В.М. Мицура // Журнал инфектологии. – 2014. – Т. 6, № 2. – С. 48–54.

28. Клиническое значение определения полиморфизма генов интерлейкина-28В и RNКазы L у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, О.В. Осипкина, С.В. Жаворонок, Д.В. Терешков, О.Ю. Баранов // Журн. микробиол. – 2014. – № 3. – С. 30–36.

29. Мицура, В.М. Мутагенный потенциал вируса гепатита С / В.М. Мицура, С.Б. Мельнов // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2014. – № 3. – С. 49–52.

30. Мицура, В.М. Генотипы вируса гепатита С и нуклеотидная последовательность локуса NS3 у пациентов с хроническим гепатитом С в Гомельской области / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, О.В. Осипкина // Клиническая инфектология и паразитология. – 2014. – № 3. – С. 79–85.

31. Распространенность и прогностическое значение двух полиморфизмов гена интерлейкина-28В для оценки эффективности противовирусного лечения хронического гепатита С / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, С.В. Жаворонок, О.В. Осипкина, Д.В. Терешков // Медицинский журнал. – 2014. – № 4. – С. 84–87.

32. Алгоритм применения препаратов стандартного и пегилированного интерферона пациентам с хроническим гепатитом С на основе определения генотипа вируса и полиморфизма гена интерлейкина-28В / В.М. Мицура,

О.В. Осипкина, Е.В. Воропаев, С.В. Жаворонок, Д.В. Терешков // Рецепт. – 2014. – № 6. – С. 35–42.

Статьи в научных сборниках и материалах конференций

33. Уровни некоторых цитокинов в сыворотке крови больных хроническим гепатитом С / В.М. Мицура, А.П. Демчило, С.В. Жаворонок, Е.Л. Красавцев // Медико-социальные аспекты ВИЧ-инфекции, парентеральных вирусных гепатитов и инфекций, передаваемых половым путем: материалы науч.-практ. респ. конф., Минск, 10 нояб. 2006 г. / под общ. ред. М.И. Римжи. – Минск: Доктор-Дизайн, 2006. – С.119–122.

34. Спектр антител к вирусу гепатита С и уровни некоторых цитокинов у больных хроническим гепатитом С / В.М. Мицура, А.П. Демчило, Е.Л. Красавцев, А.-Х. Аль-Шаби, С.В. Жаворонок //Медико-социальные аспекты ВИЧ-инфекции, парентеральных вирусных гепатитов и инфекций, передаваемых половым путем: материалы науч.-практ. респ. конф., Минск, 10 нояб. 2006 г. / под общ. ред. М.И. Римжи. – Минск: ДокторДизайн, 2006. – С.122–125.

35. Мицура, В.М. Параметры цитогенетического статуса у больных хроническим гепатитом С / В.М. Мицура, С.В. Жаворонок, С.Б. Мельнов // Сб. науч. статей Республ. науч.-практ. конф. «Актуальные проблемы медицины» и 16-й итоговой научной сессии Гомельского гос. мед. ун-та: в 4 т. / сост. С.В. Жаворонок [и др.]. – Гомель: ГомГМУ, 2007. – Т. 3. – С. 56–58.

36. Клиническое значение определения генотипа вируса гепатита С (HCV) и вирусной нагрузки РНК HCV методом Real-Time ПЦР у больных хроническим гепатитом С / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, О.Ю. Баранов, Т.А. Ковалева // Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. Вып. 1 / ГУ НИИЭМ. – Минск: Белпринт, 2008. – С. 156–159.

37. Взаимосвязь параметров клеточного и гуморального иммунитета с генотипом вируса гепатита С и вирусной нагрузкой у больных хроническим гепатитом С / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, А.Н. Кондрачук, О.Ю. Баранов // Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. Вып. 1/ ГУ НИИЭМ. – Минск: Белпринт, 2008.– С. 323–326.

38. Мицура, В.М. Значение иммунологических показателей при сочетанной инфекции HCV и ВИЧ / В.М. Мицура, Е.Л. Красавцев, Е.С. Подстреха // Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. Вып. 1 / ГУ НИИЭМ. – Минск: Белпринт, 2008. – С. 327–331.

39. Мицура, В.М. Диагностика алкогольной зависимости у больных хроническим вирусным гепатитом С в инфекционном стационаре / В.М. Мицура, И.М. Сквиря // Ученые записки Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П.Павлова. – 2009. – Т. XVI, № 4, приложение. – С. 84–85.

40. Динамика лабораторных показателей при лечении хронического вирусного гепатита С у ВИЧ-инфицированных / А.П. Демчило, В.М. Мицура, Е.И. Козорез, Е.П. Казначеева // Сб. науч. статей Респ. науч.-практ. конф. «Актуальные проблемы медицины» и 18-й итог. науч. сессии Гомел. гос. мед. ун-та: в 4 т., Гомель, 26–27 февраля 2009 г. / сост. А.Н. Лызиков [и др.]. – Гомель, 2009. – Т. 1. – С. 174–177.

41. Мицура, В.М. Показатели иммунного статуса при сочетанной инфекции вирусом гепатита С и ВИЧ / В.М. Мицура, Е.Л. Красавцев // Сб. науч. статей Респ. науч.-практ. конф. «Актуальные проблемы медицины» и 18-й итог. науч. сессии Гомел. гос. мед. ун-та: в 4 т., Гомель, 26–27 февраля 2009 г. / сост. А.Н. Лызиков [и др.]. – Гомель, 2009. – Т. 3 – С. 110–113.

42. Мицура, В.М. Изучение генотипов, нуклеотидной последовательности локуса NS3 вируса гепатита С, их влияние на эффективность интерферонотерапии / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, О.Ю. Баранов // Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. Вып. 2. – Минск: FUAinform, 2009. – С. 336–341.

43. Мицура, В.М. Качество жизни у больных хроническим гепатитом С / В.М. Мицура // Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. Вып. 2. – Минск: FUAinform, 2009. – С. 341–345.

44. Мицура, В.М. Показатели качества жизни у больных хроническим гепатитом С / В.М. Мицура // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. ст. Респ. науч.-практ. конф. и 19-й итог. науч. сессии Гомел. гос. мед. ун-та: в 4 т., Гомель, 23–24 фев. 2010 / сост. А.Н. Лызиков [и др.]. – Гомель, 2010. – Т. 3. – С. 94–96.

45. Генотипы вируса гепатита С (HCV) и нуклеотидная последовательность локуса NS3 HCV, их влияние на эффективность интерферонотерапии / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, О.Ю. Баранов, Т.А. Ковалева // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. ст. Респ. науч.-практ. конф. и 19-й итог. науч. сессии Гомел. гос. мед. ун-та: в 4 т., Гомель, 23–24 фев. 2010 / сост. А.Н. Лызиков [и др.]. – Гомель, 2010. – Т. 3. – С. 97–100.

46. Мицура, В.М. Алкогольная зависимость у больных хроническим вирусным гепатитом С в инфекционном стационаре / В.М. Мицура, И.М. Сквиря // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. ст. Респ. науч.-практ. конф. и 19-й итог. науч. сессии Гомел. гос. мед. ун-та: в 4 т., Гомель, 23–24 фев. 2010 г. / сост. А.Н. Лызиков [и др.]. – Гомель, 2010. – Т. 3. – С. 100–102.

47. Мицура, В.М. Непрямые маркеры фиброза печени у пациентов с хроническим гепатитом С / В.М. Мицура // Актуальные вопросы экспериментальной и клинической морфологии: материалы науч.-практ. конф. с междунар. уч. памяти проф. О.А. Голубева, Гомель, 4–5 мая 2010 г. / под ред. А.Н. Лызикова [и др.]. – Гомель, 2010. – С. 65–67.

48. Мицура, В.М. Диагностика хронической HCV-инфекции: значение полимеразной цепной реакции и серологических маркеров / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, Н.М. Голубых // Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. Вып. 3 / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, РНПЦ эпидемиол. и микробиол.; под ред. проф. Г.М. Игнатьева. – Минск: изд. В. Хурсик, 2010. – С. 410–414.

49. Мицура, В.М. Оценка повышенной вирусной репликации у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. ст. респ. науч.-практ. конф., посвящ. 20-летию Гом. гос. мед. ун-та, Гомель, 24–25 февр. 2011г.: в 4 т. / Гом. гос. мед. ун-т; сост. А.Н. Лызилов [и др.]. – Гомель: ГомГМУ, 2011. – Т. 3. – С. 78–81.

50. Анализ структуры пациентов с циррозами печени в инфекционном и гастроэнтерологическом стационарах / В.М. Мицура, С.А. Шут, Е.Л. Красавцев, А.А. Праведный, Т.В. Коровкина // Проблемы патоморфологической диагностики современных инфекций и других заболеваний: сб. науч. ст. II съезда патологоанатомов Республики Беларусь, Гомель, 26–27 мая 2011. – Гомель, 2011. – С. 166–169.

51. Полиморфизм гена RNКазы L и его возможное клиническое значение у пациентов с хроническим гепатитом С / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, О.В. Осипкина, Т.А. Ковалева // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. ст. респ. науч.-практ. конф. и 21-й итог. сессии Гом. гос. мед. ун-та, Гомель, 16–17 февр. 2012 г.: в 4 т. / Гом. гос. мед. ун-т; сост. А.Н. Лызилов [и др.]. – Гомель, 2012. – Т. 3. – С. 77–79.

52. Значение полиморфизмов гена IL-28B для прогноза эффективности противовирусного лечения хронического гепатита С / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, О.В. Осипкина, Т.А. Ковалева // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. ст. респ. науч.-практ. конф. и 21-й итог. сессии Гом. гос. мед. ун-та, Гомель, 16–17 февр. 2012 г.: в 4 т. / Гом. гос. мед. ун-т; сост. А.Н. Лызилов [и др.]. – Гомель, 2012. – Т.3. – С. 82–86.

53. Мицура, В. М. Использование антител к HCV класса IgM для оценки вирусной репликации у пациентов с хроническим гепатитом С / В. М. Мицура, Е.В. Воропаев // Чернобыльские чтения-2012: материалы междунар. науч.-практ. конф., Гомель, 19–20 апр. 2012. – Гомель: ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ», 2012. – С. 199–202.

54. Встречаемость полиморфизмов гена IL-28B и значение для прогноза эффективности противовирусного лечения у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С в Гомельской области / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, О.В. Осипкина, Д.В. Терешков // Сб. науч. ст. «Достижения медицинской науки Беларуси», вып. XVII. – 2012. – С. 153–155.

55. Полиморфизм гена интерлейкина-28В при хроническом гепатите С и влияние на эффективность противовирусного лечения / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, С.В. Жаворонок, О.В. Осипкина, Д.В. Терешков // Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Минск, 31окт.–1 нояб. 2013 г. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, РНПЦ ЭМ; под ред. Л.П.Титова. – Минск: ГУ РНМБ, 2013. – Вып. 6. – С. 216–221.

56. Лечение гепатита С у лиц с ВИЧ-инфекцией / В.М. Мицура, Е.И. Козорез, О.Л. Тумаш, А.П. Демчило, Е.П. Казначеева, Д.В. Терешков // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. ст. респ. науч.-практ. конф. и 22-й итог. сессии Гом. гос. мед. ун-та, Гомель, 14–15 нояб. 2013 г.: в 4 т. / Гом. гос. мед. ун-т; сост. А.Н. Лызилов [и др.]. – Гомель, 2014. – Т.3. – С. 147–149.

Тезисы докладов

57. Мицура, В.М. Прогнозирование эффективности интерферонотерапии хронического гепатита С при помощи определения антител к NS5 белку вируса гепатита С (HCV) и антител к HCV класса IgM / В.М. Мицура, А.П. Демчило, А.-Х. Аль-Шаби // Сучасні досягнення молодих вчених на допомогу практичній медицині: матеріали всеукраїнської наук.-практ. конф., Харків, 20 жовтня 2006 р. / ред. рада О.Я. Бабак та ін.; АМН України та ін. – Харків, 2006. – С. 66.

58. Мицура, В.М. Сывороточные уровни некоторых цитокинов у больных хроническим гепатитом С / В.М. Мицура, А.П. Демчило // Сучасні досягнення молодих вчених на допомогу практичній медицині: матеріали всеукраїнської наук.-практ. конф., Харків, 20 жовтня 2006 р. / ред. рада О.Я. Бабак та ін.; АМН України та ін. – Харків, 2006. – С. 67.

59. Мицура, В.М. Хромосомные аберрации и их частота у больных хроническим гепатитом С / В.М. Мицура, С.Б. Мельнов, С.В. Жаворонок // Хвороби печінки в практиці клініциста: матеріали наук.-практ. конф. з міжнарод. участю, Харків, 1–2 березня 2007 р. – Харків, 2007. – С. 200–201.

60. Результаты клинической апробации иммуноферментной тест-системы для выявления антител к вирусу гепатита С / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, С.В. Жаворонок, А.-Х. Аль-Шаби, А.В. Воропаева // Актуальные вопросы гепатологии: материалы 7-го междунар. симпозиума гепатологов Беларуси, Витебск, 5–6 июн. 2008 г. / под ред. проф. В.М. Цыркунова [и др.]. – Витебск, 2008. – С.125–127.

61. Мицура, В.М. Уровень кластогенных факторов у больных хроническим гепатитом С / В.М. Мицура, С.Б. Мельнов // Актуальные вопросы гепатологии: материалы 7-го междунар. симпозиума гепатологов Беларуси, Витебск, 5–6 июня 2008 г. / под ред. проф. В.М. Цыркунова [и др.]. – Витебск, 2008. – С. 127–128.

62. Определение мутаций С282У и Н63D гена НFE у больных хроническими гепатитами и циррозами печени / В.М. Мицура, Е.Л. Красавцев, Е.В. Воропаев, О.Ю. Баранов, Т.А. Ковалева // Актуальные вопросы гепатологии: материалы 7-го междунар. симпозиума гепатологов Беларуси, Витебск, 5–6 июня 2008 г. / под ред. проф. В.М. Цыркунова [и др.]. – Витебск, 2008. – С. 130–131.

63. Демчило, А.П. Диагностическое значение спектра антител к различным белкам вируса гепатита С / А.П. Демчило, Е.В. Воропаев, В.М. Мицура // Болезни печени в клинической практике: материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием, Харьков, 26–27 март. 2009 г. / под общ. ред. проф. В.П. Малого, проф. И.С. Кратенко. – Харьков, 2009. – С.66–67.

64. Количественное определение РНК вируса гепатита С в сыворотке крови и лимфоцитах у больных хроническим гепатитом С / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, А.В. Воропаева, О.Ю. Баранов, А.Н. Кондрачук // Болезни печени в клинической практике: материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием, Харьков, 26–27 март. 2009 г. / под общ. ред. проф. В.П. Малого, проф. И.С. Кратенко. – Харьков, 2009. – С. 115–116.

65. Выявление антител к NS5 белку вируса гепатита С (HCV) и антител к HCV класса IgM и их использование для прогноза эффективности интерферонотерапии хронического гепатита С / В.М. Мицура, С.В. Жаворонок, Е.Л. Красавцев, А.П. Демчило // Вирусные гепатиты эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика: материалы VIII Росс. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Москва, 26–28 мая 2009 г. // Мир вирусных гепатитов. – 2009. – № 3. – Ч. 2. – С. 16–17.

66. Мицура, В.М. Скрининг алкогольной зависимости у больных хроническим гепатитом С / В.М. Мицура // Материалы 8-го междунар. симпозиума гепатологов Беларуси, Могилев, 1–2 окт. 2009 г. / под ред. В.М. Цыркунова. – Минск: Тесей, 2009. – С. 83–85.

67. Mitsura, V.M. Frequency of hepatotoxicity development in the first 12 months of antiretroviral treatment in HIV-infected patients / V.M. Mitsura, E.I. Kozorez // 12th European AIDS conference: abstracts, Cologne, 11–14 Nov. 2009 // HIV Medicine. – 2009. – Vol. 10, Suppl. 2. – P. 133.

68. Мицура, В.М. Антитела к вирусу гепатита С класса IgM как маркер репликации и биохимической активности хронического гепатита С / В.М. Мицура // Журнал инфектологии. – 2010. – Т. 2, № 4. – С. 91–92.

69. Генотипы вируса гепатита С и вирусная нагрузка у больных хроническим гепатитом С / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, А.В. Воропаева, Т.А. Ковалева // Инфекционные осложнения при иммунодепрессиях: материалы Всеросс. науч.-практ. конф., С.-Петербург, 11–12 февр. 2010 г. // Вестник гематологии. – 2010. – Т. VI, № 1. – С. 47–48.

70. Мицура, В.М. Показатели иммунограммы и вирусной нагрузки ВИЧ при сочетанной инфекции вирусом гепатита С и ВИЧ / В.М. Мицура, Е.И. Козорез // Инфекционные осложнения при иммунодепрессиях: материалы Всеросс. науч.-практ. конф., С.-Петербург, 11–12 февр. 2010 г. // Вестник гематологии. – 2010. – Т. VI, № 1. – С. 49–50.

71. Мицура, В.М. Нуклеотидная последовательность локуса NS3 HCV и ее возможное влияние на эффективность интерферонотерапии / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, О.Ю. Баранов // Інфекційні і паразитарні хвороби в практиці клініциста: сучасний стан діагностики, лікування та їх запобігання: матеріали наук.-практ. конф., Харків, 1–2 квітня 2010 року. – Харьков, 2010. – С. 235–236.

72. Мицура, В.М. Факторы, влияющие на развитие гепатотоксичности в первые 12 месяцев антиретровирусной терапии ВИЧ-инфекции / В.М. Мицура, Е.И. Козорез // Інфекційні і паразитарні хвороби в практиці клініциста: сучасний стан діагностики, лікування та їх запобігання: матеріали наук.-практ. конф., Харків, 1–2 квітня 2010 року. – Харьков, 2010. – С. 236–237.

73. Мицура, В.М. Применение непрямых маркеров фиброза печени у пациентов с хроническим гепатитом С / В.М. Мицура // Актуальные вопросы гепатологии: материалы 9-го междунар. симпозиума гепатологов Беларуси, Брест, 29–30 сентября 2011 г. – Брест, 2011. – С. 137–138.

74. Мицура, В.М. Оценка распространенности ВГС-инфекции среди населения Республики Беларусь / В.М. Мицура, С.В. Жаворонок // Актуальные вопросы инфекционной патологии: материалы 6-го съезда инфекционистов Республики Беларусь, Витебск, 29–30 мая 2014 г. / под ред. проф. В.М. Семенова. – Витебск, 2014. – С. 126–127.

Инструкции по применению

75. Способ прогноза эффективности интерферонотерапии хронического гепатита С: инструкция по применению: утв. 18.12.2007, № 013-0407 / Е.Л. Красавцев, С.В. Жаворонок, В.М. Мицура ; М-во здравоохранения Республики Беларусь, Гом. гос. мед. ун-т. – Гомель, 2008. – 12 с.

76. Метод прогнозирования вероятности неблагоприятных исходов у ВИЧ-инфицированных пациентов на фоне антиретровирусной терапии: инструкция по применению : утв. 30.01.2009, № 002-0109 / Е.И. Козорез, С.В. Жаворонок, В.М. Мицура, Е.Л. Красавцев, Н.В. Москалева ; М-во здравоохранения Республики Беларусь, Гом. гос. мед. ун-т. – Гомель, 2009. – 14 с.

77. Алгоритм выявления алкогольной зависимости у пациентов с хроническими заболеваниями печени: инструкция по применению утв. 27.09.2010, № 067-0610 / В.М. Мицура, И.М. Сквиря ; М-во здравоохранения Республики Беларусь, Гом. гос. мед. ун-т. – Гомель, 2010. – 22 с.

78. Способ прогноза эффективности интерферонотерапии хронического гепатита С на основе определения полиморфизмов гена интерлейкина-28В: ин-

струкція по применению : утв. 22.03.2013, № 019-0213 / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, С.В. Жаворонок, О.В. Осипкина, Д.В. Терешков ; М-во здравоохранения Республики Беларусь, Бел. гос. мед. ун-т. – Минск, 2013. – 4 с.

79. Алгоритм назначения противовирусной терапии пациентам с хроническим вирусным гепатитом С на основе определения генотипов вируса гепатита С и полиморфизма гена интерлейкина-28В : инструкция по применению : утв. 27.11.2014, № 136-1114 / В.М. Мицура, Е.В. Воропаев, С.В. Жаворонок, О.В. Осипкина, Д.В. Терешков ; М-во здравоохранения Республики Беларусь, Гом. гос. мед. ун-т, Бел. гос. мед. ун-т. – Минск, 2014. – 11 с.

Патенты

80. Тест-система иммуноферментная для определения антител к вирусу гепатита С : пат. 3779 Респ. Беларусь, МПК6 G01N 33/00, C12Q 1/00 / С.В. Жаворонок, А.С. Рудницкая, Е.В. Воропаев, В.М. Мицура, А.А. Аль-Шаби ; заявитель Гомел. гос. мед. ун-т. – № u 20070001; заявл. 03.01.2007; опубл. 30.08.2007 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2007. – № 4. – С. 233.

81. Спосіб інтегрованої діагностичної ідентифікації алкогольної залежності у загальносоматичній практиці : пат. 65396 України, МПК7 G01N 33/48, A61B 10/00 / І.К. Сосин, В.М. Мицура, І.М. Сквиря, О.Ю. Гончарова, Ю.Ф. Чуєв, О.В. Кубрак, О.С. Волков, О.А. Осипов, Н.П. Бурмака ; заяв. Харківська медична академія післядипломної освіти. – № u 201104235 ; заявл. 07.04.2011 ; опубл. 12.12.2011 // Бюл. № 23.

82. Спосіб прогнозування результату противірусного лічення хронічного гепатиту С, вызванного HCV генотип 3а, препаратом інтерферона α : пат. 17965 Респ. Беларусь, МПК6 G01N 33/53 / Е.Л. Красавцев, В.М. Мицура, А.В. Воропаєва; заявитель РНПЦ РМиЭЧ, Гомельський гос. мед. ун-т. – № а 20110529; заявл. 25.04.2011; опубл. 28.02.2014 // Афіцыйны бюл./ Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2014. – № 1. – С. 122–123.

83. Спосіб определения наличия и степени выраженности фиброза печени у пациента с хроническим гепатитом С : пат. 18589 Респ. Беларусь, МПК6 G01N 33/48 / В.М. Мицура, Э.А. Надыров; заявитель Гомел. гос. мед. ун-т, РНПЦ РМиЭЧ. – № а 20111809 ; заявл. 23.12.2011; опубл. 30.08.2014 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2014. – № 4. – С. 62.

Методические рекомендации

84. Інтегрована діагностична ідентифікація алкогольної залежності у загальносоматичній практиці: методичні рекомендації: узгодж. МОЗ України 06.12.2012 / І.К. Сосін, І.М. Сквиря, В.М. Міцура, Ю.Ф. Чуєв, О.Ю. Гончарова; МОЗ України, Укр. центр наук. медичн. інформації та патентно-ліценз. роботи. – Київ, 2013. – 19 с.

РЭЗІЮМЭ

Міцура Віктар Міхайлавіч

Гепатыт С: механізмы патагенезу, метады дыягностыкі, лячэння і прафілактыкі неспрыяльных вынікаў

Ключавыя словы: хранічны гепатыт С (ХГС), HCV-асацыіраваны цыроз печані, HCV/HIV ко-інфекцыя, алкаголь, полімарфізм гена IL-28B, генетычныя фактары, спектр антыцелаў, цытакіны, прагрэсаванне фіброзу, прагназаванне, аптымізацыя супрацьвіруснага лячэння.

Мэта даследавання: на аснове выяўлення малекулярна-генетычных і імунных механізмаў патагенезу HCV-інфекцыі распрацаваць метады дыягностыкі і лячэння, прафілактыкі яе неспрыяльных вынікаў.

Метады даследавання і апаратура: клінічныя, малекулярна-генетычныя (ПЛР), вірусалагічныя (секвеніраванне), сералагічныя (ІФА), імуналагічныя (праточная цытаметрыя, ІФА), анкетныя, статыстычныя.

Атрыманыя вынікі. Вызначаны распаўсюджанасць, клініка-эпідэміялагічныя параметры і вынікі HCV-інфекцыі і HCV/HIV ко-інфекцыі, біялагічныя ўласцівасці HCV. Выяўлены асаблівасці цыркуляцыі антыцелаў да асобных бялкоў HCV, частата сустракальнасці алкагольнай залежнасці, выражанасць фіброзу печані ў пацыентаў з ХГС. Даследаваны полімарфізм гена IL-28B і іншыя малекулярна-генетычныя маркеры, іх распаўсюджанне і значэнне для прагнозу эфектыўнасці тэрапіі ХГС, удасканалены алгарытм лячэння ХГС, разлічаны эканамічны ўрон ад HCV-інфекцыі.

Навуковая навізна: упершыню ўстаноўлена структура цыркуляцыі субтыпаў HCV, вылучаны ўнікальныя нуклеатыдныя паслядоўнасці HCV, частата выяўлення і клінічнае значэнне полімарфізмаў генаў IL-28B, РНКазы L, мутацый гена HFE, алеляў HLA-DRB1*1101 і HLA-DQB1*03 у пацыентаў з ХГС. Распрацаваны: дыягнастычная ІФА тэст-сістэма, крытэрыі ацэнкі выражанасці фіброзу печані і наяўнасці алкагольнай залежнасці, устаноўлена іх клінічная значнасць.

Выкарыстанне вынікаў: укаранёныя ў клінічную практыку ўстаноў аховы здароўя Рэспублікі Беларусь крытэрыі неінвазіўнай дыягностыкі фіброзу печані, алгарытм дыягностыкі алкагольнай залежнасці, спосаб прагназавання эфектыўнасці інтэрферонатэрапіі, алгарытм назначэння супрацьвіруснага лячэння пацыентам з ХГС.

Галіна ўжывання: інфекталогія, гепаталогія, вірусалогія.

РЕЗЮМЕ

Мицура Виктор Михайлович

Гепатит С: механизмы патогенеза, методы диагностики, лечения и профилактики неблагоприятных исходов

Ключевые слова: хронический гепатит С (ХГС), HCV-ассоциированный цирроз печени, HCV/HIV ко-инфекция, алкоголь, полиморфизм гена ИЛ-28В, генетические факторы, спектр антител, цитокины, прогрессирование фиброза, прогнозирование, оптимизация противовирусного лечения.

Цель работы: на основе выявления молекулярно-генетических и иммунных механизмов патогенеза HCV-инфекции разработать методы диагностики и лечения, профилактики ее неблагоприятных исходов.

Методы исследования и аппаратура: клинические, молекулярно-генетические (ПЦР), вирусологические (секвенирование), серологические (ИФА), иммунологические (проточная цитометрия, ИФА), анкетные, статистические.

Полученные результаты. Определены распространенность, клинико-эпидемиологические параметры и исходы HCV-инфекции и HCV/HIV ко-инфекции, биологические свойства HCV. Установлены особенности циркуляции антител к отдельным белкам HCV, частота встречаемости алкогольной зависимости, выраженность фиброза печени у пациентов с ХГС. Изучены полиморфизм гена ИЛ-28В и другие молекулярно-генетические маркеры, их распространение и значение для прогноза эффективности терапии ХГС, усовершенствован алгоритм лечения ХГС, рассчитан экономический ущерб от HCV-инфекции.

Научная новизна: впервые установлена структура циркуляции субтипов HCV, выделены уникальные нуклеотидные последовательности HCV, частота выявления и клиническое значение полиморфизмов генов ИЛ-28В, RNКазы L, мутаций гена HFE, аллелей HLA-DRB1*1101 и HLA-DQB1*03 у пациентов с ХГС. Разработаны: диагностическая ИФА тест-система, критерии оценки выраженности фиброза печени и наличия алкогольной зависимости, установлена их клиническая значимость.

Использование результатов: внедрены в клиническую практику учреждений здравоохранения Республики Беларусь критерии неинвазивной диагностики фиброза печени, алгоритм диагностики алкогольной зависимости, способ прогнозирования эффективности интерферонотерапии, алгоритм назначения противовирусной терапии пациентам с ХГС.

Область применения: инфектология, гепатология, вирусология.

SUMMARY

Mitsura Viktor Mikhailavich

Hepatitis C: mechanisms of pathogenesis, methods of diagnosis, treatment and prevention of adverse outcomes

Key words: chronic hepatitis C (CHC), HCV-associated liver cirrhosis, HCV/HIV co-infection, alcohol, IL-28B gene polymorphism, genetic factors, the spectrum of antibodies, cytokines, progression of fibrosis, prognosis, optimization of antiviral treatment.

Aim of the research: to develop methods of diagnostics, treatment and prevention of adverse outcomes of HCV-infection, based on identification of the molecular, genetic and immune mechanisms of the pathogenesis.

Research methods and instruments: clinical, molecular biology (PCR, RNA sequencing), serological (ELISA), immunological (flow cytometry, ELISA), questionnaires, statistical.

Results. The prevalence, clinical and epidemiological parameters and outcomes of HCV-infection and HCV/HIV co-infection, the biological properties of HCV were determined. The peculiarities of the antibodies to particular proteins HCV circulation, the incidence of alcohol dependence, liver fibrosis in patients with CHC were determined. The IL-28B gene polymorphism and other molecular genetic markers were studied, their distribution and importance for the prediction of CHC therapy effectiveness were established. The algorithm of CHC treatment was improved, the economic burden of HCV-infection was calculated.

Scientific novelty: the structure of HCV circulating subtypes, the unique nucleotide sequences of HCV were isolated for the first time. The detection rate and clinical significance of IL-28B and RNase L gene polymorphisms, mutations in the HFE gene, the HLA-DRB1*1101 and HLA-DQB1*03 alleles were determined. New diagnostic ELISA test kit was made, the evaluation criteria of liver fibrosis severity and the presence of alcohol dependence were developed, their clinical significance was established.

Use of the results: the results were implemented into clinical practice of public health institutions of the Republic of Belarus: criteria for non-invasive diagnosis of liver fibrosis, diagnostic algorithm for alcohol addiction, a method for predicting the interferon treatment effectiveness, antiviral therapy administration algorithm in patients with CHC.

Field of application: infectology, hepatology, virology.

Подписано в печать 10.04.15. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Снегурочка».
Ризография. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 2,56. Уч.-изд. л. 2,94. Тираж 60 экз. Заказ 204.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 18.02.2014.

Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.