

На правах рукописи

Понежева Жанна Бетовна

Клинико-иммунологические аспекты патогенеза
хронического гепатита С и пути оптимизации терапии

14.01.09 – инфекционные болезни

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Москва – 2011

Работа выполнена на кафедре инфекционных болезней Кабардино-Балкарского государственного университета им. Х.М. Бербекова Федерального агентства по образованию и науке Российской Федерации

Научный консультант:

Заслуженный деятель науки КБР,
доктор медицинских наук,
профессор

Нагоев Беслан Сафарбиевич

Официальные оппоненты:

Заслуженный деятель науки РФ,
член-корреспондент РАМН,
доктор медицинских наук,
профессор

Пак Сергей Григорьевич

Заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук,
профессор

Грачева Нина Михайловна

доктор медицинских наук,
профессор

Токмалаев Анатолий Карпович

Ведущая организация: Государственное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия последиplomного образования» Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию

Защита состоится «___» _____ 2011г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.114.01 ФГУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора (111123, г.Москва, ул. Новогиреевская, д.3а)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора.

Автореферат разослан «___» _____ 2011 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук,
профессор

Александр Васильевич Горелов

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Среди хронических заболеваний печени вирусный гепатит стоит на первом месте и составляет 40-60% от общего числа больных хроническим гепатитом (Ющук Н.Д. с соавт., 2000; Шахгильдян И.В. с соавт., 2003; Мухин Н.А., 2004). Установлено, что через 10 лет от момента инфицирования у 5-10% больных ХГС формируется цирроз печени, а через 20-30 лет уже у 20%-25% больных (Сорисон С.Н., 1997; Покровский В.И. с соавт., 2003; Лобзин Ю.В., 2005). Оценка летальности при хронических заболеваниях печени свидетельствует, что доля смертей от ХГС составляет около 70% случаев (Игнатова Т.М., 2000, с соавт., 2005; Серов В.В. с соавт., 2002, 2004; Никонов Е.Л. с соавт., 2006). В мире насчитывается более 175 миллионов человек, инфицированных вирусом гепатита С (около 1%) (Серов В.В., 2004; Блюм Х.Е., 2005; Шахгильдян И.В. с соавт., 2009). Значимость ХГС обусловлена высоким уровнем заболеваемости, ростом числа вирусоносителей и изменением возрастной структуры инфицированных с преобладанием лиц молодого возраста (Лучшев В.И. с соавт., 2004; Мухин Н.А., 2005; Нагоев Б.С. с соавт., 2005). Большую опасность вызывает сложившаяся эпидемиологическая обстановка по вирусным гепатитам в связи с ростом наркомании, среди которых риск заражения по данным ВОЗ составляет от 50 до 90%, тогда как в обычной популяции заболеваемость не превышает 5% (Михайлов М.И. с соавт., 1999; Радченко В.Г. с соавт., 2004; Никитин И.Г., 2000; Нагоев Б.С. с соавт., 2010).

В изучении патогенеза и естественного течения HCV-инфекции достигнуты значительные успехи: сформированы основные представления о механизме репликации вируса. Показано, что в исходе острой инфекции ключевую роль играет клеточный иммунный ответ (Покровский В.И., 1994; Майер К.П., 2000; Ивашкин В.Т., 2003, Жданов К.В., 2004; Каминский Ю.В. с соавт., 2005), а в исходе хронической инфекции скорость и интенсивность развития фиброза печени (Ющук Н.Д. с соавт., 2000; Мухин Н.А., 2005; Никитин В.Ю. с соавт., 2007). Доказано, что HCV обладает высокой степенью генетической изменчивости и антитела, образующиеся к поверхностным антигенам вируса не обладают вируснейтрализующими свойствами, достаточными для его элиминации (Маммаев С.Н. с соавт., 2002; Блюм Х.Е., 2005; Буеверов А.О. с соавт., 2005). В течение последнего десятилетия быстрыми темпами развивались генные методы диагностики HCV-инфекции, позволившие добиться определения генетического материала вируса в минимальных концентрациях и доказать способность его репликации в лимфоцитах крови и других тканях помимо ткани печени (Ющук Н.Д. с соавт., 2000; Лакина Е.И., 2002; Игнатова Т.М., 2005). Клинические проявления ХГС многообразны и зависят от биологических свойств вируса и особенностей их взаимодействия с иммунной системой человека (Хаитов Р.М. с соавт., 2000; Каминский Ю.В. с соавт., 2006; Нагоев Б.С. с соавт., 2010). Разработано относительно эффективное лечение комбинацией пегилированного интерферона и рибавирина, позволяющее добиться устойчивого вирусологического ответа у 50-60% больных ХГС (Ющук Н.Д. с соавт., 2000; Жданов К.В. с соавт., 2002; Михайлов М.И. с соавт., 2002; Маевская М.В., 2007).

В настоящее время ХГС представляет актуальную медико-социальную проблему ввиду его повсеместного распространения, возможности развития серьезных осложнений, значительного экономического ущерба, нерешенности многих вопросов противовирусной терапии, недостаточной ее эффективности и высокой стоимости (Блохина Н.П., 2003; Онищенко Г.Г., 2002; Шахгильдян И.В. с соавт., 2009). Несмотря на большие достижения в изучении патогенеза ХГС, остается много нерешенных вопросов в области диагностики, профилактики и лечения этой инфекции. Трудности в распознавании ХГС связаны с частым малосимптомным течением и наличием только морфологических изменений в ткани печени (Майер К.П., 2000; Лучшев В.И. с соавт., 2004). Многие вопросы, касающиеся механизмов повреждающего действия гепатотропных вирусов на печень, роли иммунной системы в прогрессировании патологии, остаются открытыми.

Таким образом, дальнейшее уточнение иммунопатогенеза ХГС и идентификация иммунологических критериев прогрессирования и критериев благоприятного ответа на терапию является актуальной медицинской проблемой. Особое значение приобретает создание дифференциально-диагностических и прогностических критериев течения и исходов ХГС, разработанных на изучении и анализе показателей неспецифического, клеточного и гуморального звеньев иммунитета и поиск новых путей оптимизации ПВТ. Учитывая обозначенный ряд нерешенных вопросов, определены цели и задачи исследования.

Цель исследования

Выяснение патогенетических механизмов хронического гепатита С путем комплексного исследования различных звеньев иммунитета, разработка дополнительных критериев течения и прогноза, оптимизация терапии.

Задачи исследования

1. Изучить характер изменений клеточного, гуморального звена иммунитета и неспецифической резистентности у больных ХГС в зависимости от генотипа HCV и активности процесса
2. Исследовать цитокиновый профиль у больных ХГС
3. Установить взаимосвязи изменений уровня ключевых цитокинов с параметрами клеточного и гуморального иммунитета при ХГС
4. Определить иммунные нарушения, ассоциированные с прогрессирующим течением HCV-инфекции. Разработать иммунологические критерии диагностики течения, прогноза и исходов ХГС
5. Исследовать функциональную активность системы фагоцитирующих мононуклеаров (СФМ) в эксперименте, изучить гепатопротективные и иммуностропные эффекты аминофталгидрозида и мурамилдипептида на различных моделях гепатита
6. Обосновать применение и оценить эффективность аминофталгидразида (АФГ) и мурамилдипептида (МДП) в комплексной терапии больных ХГС.

Научная новизна исследования

Проведено комплексное исследование иммунной системы с анализом функционального состояния СФМ, гуморального, клеточного иммунитета у больных ХГС с учетом клинко-лабораторных и вирусологических параметров, в ходе которого определены патогенетически значимые взаимосвязи процессов активации СФМ и апоптоза иммунокомпетентных клеток, выявлены корреляции ключевых цитокинов с рядом клинко-лабораторных синдромов и с показателями иммунитета в зависимости от стадии и генотипа HCV.

Разработан алгоритм иммунологического обследования больных ХГС, определены дополнительные иммунологические критерии диагностики течения, прогноза, исходов заболевания.

Изучена функциональная активность системы фагоцитирующих мононуклеаров при ХГС и впервые в эксперименте показана роль макрофагов в регенерации печени. На различных моделях экспериментального гепатита изучено действие аминофталгидрозида (АФГ) и мурамилдипептида (МДП) и впервые получено морфологическое подтверждение гепатопротективного и иммуномодулирующего эффектов выбранных препаратов.

Научно обосновано применение и изучена эффективность аминофталгидрозида (АФГ) и мурамилдипептида (МДП) в комплексной терапии ХГС.

Практическая значимость

Углубленное изучение механизмов иммунопатогенеза ХГС с позиций активации СФМ, клеточного иммунитета и ключевых цитокинов выявило иммунологические диагностические критерии прогрессирования заболевания, что может служить дополнительным критерием диагностики течения, выбора метода и контроля эффективности терапии ХГС

Предложен перечень иммунологических критериев для диагностики и прогнозирования течения и исходов ХГС.

Обоснован выбор АФГ, МДП и предложены пути оптимизации патогенетической терапии при ХГС.

Внедрение в практику. Результаты диссертационной работы доложены на многих научно-практических конференциях, конгрессах, опубликованы в печати и внедрены в практику Республиканского центра инфекционных болезней (РЦИБ).

Основные положения диссертации используются при проведении учебных циклов для ординаторов и аспирантов на кафедре инфекционных болезней и в процессе обучения студентов медицинского факультета КБГУ по темам: «Парентеральные вирусные гепатиты», «Хронические вирусные гепатиты», «Хронический гепатит С», «Иммунитет и иммунореактивность», «Неспецифическая резистентность и иммунитет».

Материалы работы включены в методическое пособие «Цитокины в клинике инфекционных болезней» (2008г.), в монографии «Хронические вирусные гепатиты: иммунопатогенетические, клинико-диагностические и терапевтические аспекты» (2005г.), «Современные клинико-иммунологические аспекты патогенеза хронического гепатита С» (2010г.). По результатам исследований получен патент №2266118 гос.реестр РФ от 20.12.2005 и принята на рассмотрение 26.04.2010 заявка на патент «Метод лечения токсического гепатита в эксперименте».

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано 67 научных работ, из них – 12 в изданиях, рекомендуемых ВАК.

Апробация работы

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на ежегодных научных конференциях медицинского факультета КБГУ (2004-2011), на международной научно-практической конференции «Проблемы клиники, диагностики, терапии гепатитов» г.Харьков 2005, 2007, 2008, 2010гг; на 1,2,3,4 Южнороссийских научно-практических конференциях с международным участием «Актуальные вопросы инфекционной патологии Юга России» г.Геленджик, 2005, 2006, в г.Сочи 2008, 2010; на российской научно-практической конференции «Инфекционные болезни: проблемы здравоохранения и военной медицины», г. Санкт-Петербург 2006, на международном евро-азиатском симпозиуме по инфекционным болезням в г. Витебск, 2008г; на 1 и 2 всероссийских конгрессах по инфекционным болезням г. Москва, 2009.-2010гг., на научно-практической конференции «Проблемы семейного здоровья» г. Владикавказ, 2008; на международной конференции «Фундаментальные проблемы морфологии в клинической медицине», 2009г; международный конгресс по вирусным гепатитам г. Харьков, 2009; в г. Махачкала на ежегодных Всероссийских научно-практических конференциях «Актуальные вопросы инфекционных болезней в клинике, стандарты диагностики и лечения» 2006-2010гг; на совместной международной конференции и дискуссионного научного клуба «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии», Украина, Ялта, 2010г; на межрегиональном форуме «Актуальные вопросы аллергологии и иммунологии – междисциплинарные проблемы» г. Санкт-Петербург, 2010; на 4 съезде научного общества специалистов клинической лабораторной диагностики «Клиническая лабораторная наука - практике: первое десятилетие 21 века» г. Москва, 2010г.

Диссертация апробирована на совместной научной конференции кафедр инфекционных болезней, микробиологии, вирусологии и иммунологии и Кабардино-Балкарского республиканского центра инфекционных болезней (РЦИБ) 27 января 2011г.

Работа апробирована на заседании апробационного совета ФГУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора 24.02.2011 г.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 250 страницах машинописного текста, состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы, содержащего 463 наименований работ (223 на русском языке и 240 на иностранном). Работа иллюстрирована 25 рисунками, 6 схемами, 37 таблицами и 9 клиническими примерами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Под наблюдением находилось 264 больных ХГС в возрасте от 18 до 60 лет, средний возраст $33,4 \pm 2,1$, из них мужчин 167 (63,3%) и женщин – 97(36,7%). Все больные наблюдались не менее 3х лет. Контрольную группу составили 45 здоровых лиц (в возрасте 18 - 45 лет). Диагноз ХГС устанавливался на основании эпидемиологических, клинико-лабораторных данных и подтверждался выявлением специфических маркеров инфицирования HCV методом ИФА, а также детекцией РНК ВГС методом ПЦР у всех больных.

Для выполнения намеченного плана использовались различные методы исследования, которые указаны в таблице 1: общепринятое лабораторное исследование в гепатологическом отделении; цитокиновый профиль включал исследование ИЛ-1 β , -4, -6, -10, -12, ФНО- α в сыворотке крови ИФА методом с использованием тест-систем НПО «Протеиновый контур», развернутый ИФН-статус с определением чувствительности к препаратам ИФН, индукторам ИФН и иммуномодуляторам проводили в соответствии с методическими рекомендациями «Определение ИФН-статуса в цельной крови у людей при массовых обследованиях» от 23.03.89. (С. С. Григорян, Ф. И. Ершов, 1996). Изучение врожденного иммунитета с определением CD16+, CD14+, функциональной активности фагоцитов в НСТ-тесте по стандартной методике Stuart с соавт. (1975) в модификации Нагоева Б.С (1980) и фагоцитарной активности, исследование клеточного иммунитета с определением субпопуляций CD3+, CD4+, CD3+CD56+, CD8+, CD19+, ИРИ, маркеров активации CD25+, апоптоза иммунокомпетентных клеток (CD95+ на моноцитах, лимфоцитах) методом проточной цитометрии с помощью моноклональных антител. Определение IgA, IgM, IgG методом радиальной иммунодиффузии по Манчини (1965) и ЦИК методом преципитации в полиэтиленгликоле. Пункционная чрезкожная биопсия печени проведена 32 больным ХГС, а эластометрия – 38 пациентам.

Объем и перечень исследований указаны в таблице 1.

Таблица 1

Направления, методы и объем исследований

№	Направление Исследования	Методы исследования	Объем Работ
		Анкетирование и заполнение опросника (при отказе пациента – родственниками)	264 чел
1.	Клинико-лабораторные исследования	Комплексное обследование больных и лиц контрольной группы в динамике	264 чел/ 45 здоровых
		Расширенный мониторинг клинико-биохимических и инструментальных (УЗИ) показателей	264 чел
2.	Маркерная диагностика ХГС	Определение антител к HCV методом ИФА	264 чел
		Качественное определение РНК ВГС методом ПЦР с генотипированием (Simmonds P., 1995) Количественное определение РНК ВГС методом ПЦР	264 кач. ПЦР 203 генотипиров 198 чел. Кол./293 ан.
3.	Морфологическая характеристика поражения печени	Параметры активности гепатита (по Knodell R.G., 1984) и фиброза (по Desmeth V., 1994) по биопсии печени Фибросканирование (эластометрия) FibroScan FA-502 (Франция)	32 чел 38 чел
4.	Цитокиновый профиль	Определение содержания ИЛ-1β, ИЛ - 4, -6, -10, -12, ФНО-α в сыворотке крови методом ИФА	264/ 1320 чел/ проб
		Определение с.ИФН, ИФН-α, ИФН-γ и индуцир. ИФН-α, ИФН-γ с определением чувствительности к препаратам	236/ 1780 чел/ проб
5.	Неспецифический иммунитет	CD14+, CD16+, CD14/CD95 на МНК НСТ-тест / в модификации Нагоева Б.С., ФА, ФЧ., ЗФ	127 / 384 264/ 792
6.	Субпопуляции иммунокомпетентных клеток	Определение субпопуляций Т-лимфоцитов (с помощью проточной цитофлуориметрии): CD3+, CD4+, CD8+, CD4/ CD8, CD3+CD56+, CD19+, CD95+ и CD25+ на основных лимфоцитах ПК IgA, IgM, IgG (по Манчини), ЦИК	264/ 670 264/ 794
7.	Статистическая обработка материала	Математическая обработка методами описательной, параметрической и непараметрической статистики с использованием программы «Biostat», «Statistica 5», коэффициента линейной корреляции и непараметрической корреляции Спирмена.	Все показатели

ХГС в фазе репликации выявлен у 203 больных, а нерепликативная фаза - у 61 (20%) больного ХГС. При репликативной фазе ХГС анти-HCV IgM выявлены у 118 больных (58,1%). Эпидемиологический анамнез помог установить, что 39% больных инфицированы при ПИН (104 больных), а 37% - это больные с частыми парентеральными и инвазивными вмешательствами (97 больных). Длительность заболевания предположительно до 2 лет у 75 больных (28,5%), от 3 до 5 лет – 87 больных (32,9%), от 6 до 10 лет у 50 больных (18,9%), более 10 лет – 20 пациентов (7,6%), 32 пациента (12,1%) не знают сроки заболевания.

Фаза репликации выявлена у 203 (76,9%) больных. Результаты проведенного генотипирования выявили генотипы 1b, 3a, 1a, 2 и 1b+3a с явным преобладанием 3a и 1b субтипов (рис. 1). Генотип 1b - в 42,9% случаев (87 пациентов), генотип 3a выявлен у 93 (45,8 %) больных, отмечается сочетанное инфицирование генотипами 1b+3a у 17 больных (8,4%), у 2 больных ХГ С обнаружен 2 генотип (1%), с генотипом 1a – 4 пациентов (2%).

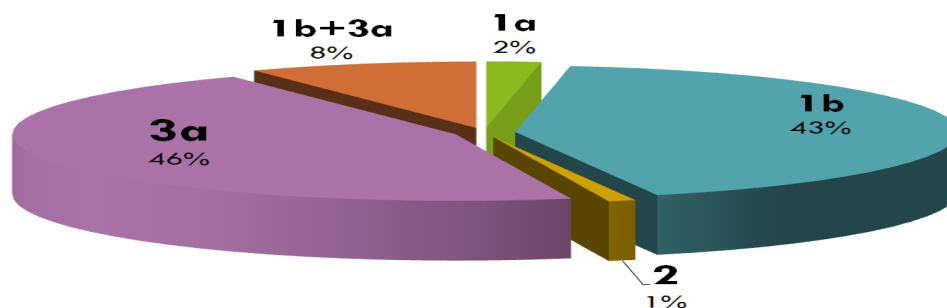


Рис. 1. Распределение генотипов HCV среди обследованных больных ХГ

В соответствии с международной классификацией ХВГ (Лос-Анжелес, 1994), в модификации А.Г. Рахмановой с соавторами (2002) у всех больных оценивалась фаза репликации и степень биохимической активности ХГС. В исследованиях повышение активности в сыворотке крови до 3 норм АЛТ расценивали как минимальную степень активности (24% случаев), от 3,1 до 5 норм АЛТ как умеренную степень активности (20% случаев), от 5 норм АЛТ и выше как выраженную степень активности (19% случаев), без биохимической активности ХГС у 37% больных (рис.2).

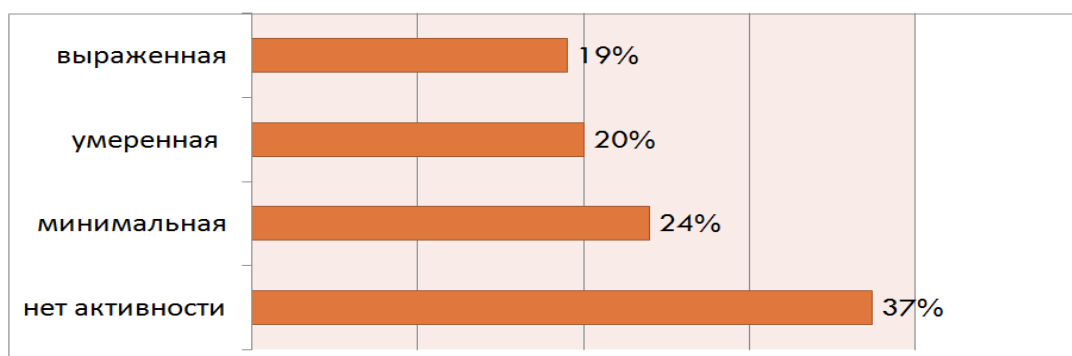


Рис. 2. Распределение больных ХГС по степени биохимической активности

Клинические проявления малосимптомны и зависят от активности ХГС. В последние годы частый вариант «начала» болезни - случайное обнаружение маркеров HCV-инфекции при отсутствии жалоб и изменений «печеночных» проб. Основными клиническими проявлениями были синдром прогрессирующей астенизации до 58%, боли и тяжесть в правом подреберье (57%) и гепатомегалия у (54%).

При сравнительном анализе клинико-лабораторной характеристики больных ХГС в зависимости от генотипа выявлено, что мужчин достоверно больше (79%) в группе с генотипом 3a, чем в группе с 1b, а средний возраст в группе с 3a субтипом «моложе» - $[29,7 \pm 1,1]$, чем в группе с 1b, где средний возраст составил $[34,4 \pm 1,7]$. Сравнительный анализ биохимических показателей крови показал, что достоверно выше показатели только тимоловой пробы ($p < 0,05$) у больных с генотипом 1b.

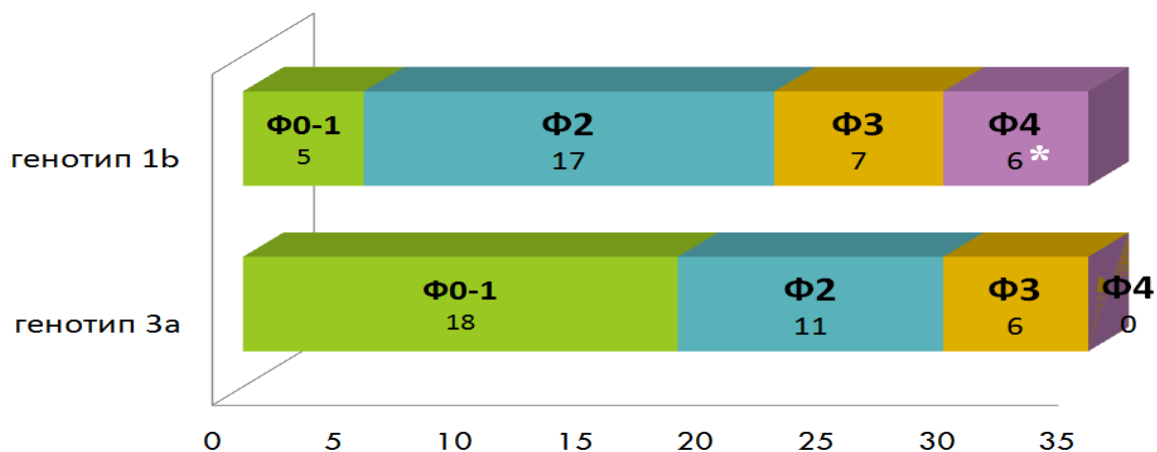
Достоверных различий в жалобах и синдромах в зависимости от генотипа ВГС не выявлено. Внепеченочные проявления выявлялись в 31,2% случаев ХГС с 3a генотипом. Клинико-биохимические показатели между различными генотипами указаны в табл. 2.

Клинико-биохимические показатели в зависимости от генотипа HCV

Показатели	1b генотип n =87 абс./%	3a генотип N =93 абс./%	Микст-гепатит n =17 абс./%	Итого N =197 абс./%
Астеновегетативный синдром	54/ 62,1	47/ 50,5	11/ 64,7	112/ 56,8
Тяжесть и/или боли в правом подреберье	51/ 58,6	39/ 41,9	9/ 52,9	99/ 50,3
Диспептический синдром	41/ 47,1	33/ 35,5	8/ 47,1	82/ 41,6
Субиктеричность кожи и склер	31/ 35,5	24/ 25,8	6 / 35,3	61/ 31
Гепатомегалия	53/ 60,1	34/ 36,5	10/ 58,8	97./ 49,2
Нет биохимической активности	30 / 34,5	41/ 44,1	Нет случая	71/ 36
Стадия минимальной биохимической активности	19/ 21,8	28/ 30,1	Нет случая	47/ 23,9
Стадия умеренной биохимической активности	21/ 24,1	14/ 15,1	7/ 41,1	42/ 21,3
Стадия выраженной биохимической активности	17/ 19,5	10/ 10,8	10/ 58,9	37/ 18,8

При гистологическом анализе данных биопсии (n= 32) отмечается, что у больных ХГС с генотипом 3a (n=17) минимальная активность (ИГА= 1-3) у 12 пациентов, слабовыраженная (ИГА=6-9) у 5 больных, с выраженной активностью больных в этой группе нет. В группе с генотипом 1b (n= 15) выявляется минимальная активность (ИГА= 1-3) у 2 пациентов, слабовыраженная (ИГА=6-9) у 11 больных и 2 пациента с выраженной активностью (ИГА=9-10). Анализ биохимической активности и гистологической активности в печени между группами больных ХГС с генотипами 3a и 1b не выявил статистически значимых отличий. В 61% случаев гистологическая активность была выше биохимической, а у 21% больных показатели цитолиза были выше гистологической активности процесса в печени – все пациенты с ХГ, смешанной этиологии (токсический + ВГС).

По степени выраженности фиброза (биопсия у 32 больных и эластографии у 38) (рис.3) у пациентов с 3a и 1b генотипами: Ф0-1 отмечается у 18 и 5, соответственно; Ф2- у 12 и 17, соответственно; Ф3- у 5 и 7, соответственно, фиброз Ф4 (ЦП) при 3a генотипе – нет случая, а с генотипом 1b фиброз Ф4 у 4 больных и 2 больных с компенсированным ЦП. Таким образом, при сравнение групп с генотипами 3a и 1b по степени выраженности фиброза выявлен статистически значимый ($p<0,05$) фиброз в группе с субтипом 1b.



* достоверность по отношению к генотипу 3a

Рис. 3. Распределение больных по степени выраженности фиброза печени у больных ХГС с генотипами 3a и 1b

Изучение функциональной активности системы фагоцитирующих мононуклеаров (СФМ)

Анализ СФМ путем исследования CD14 и CD95 на моноцитах крови у больных ХГС выявил следующие особенности: уровень CD14+ было снижен у 53% больных, в 25% случаев повышен и у 12% пациентов оставался в пределах нормы. Среднее количество CD14 было достоверно ниже показателей нормы ($P < 0,05$). Показатель CD95+ на моноцитах крови повышен у 63% больных, у 29% снижен и у 8% в пределах нормы. Значимо повышен показатель коэкспрессии CD14+/CD95+ у больных ХГС по сравнению с показателями контрольной группы. При сравнительном анализе показателей CD14+, CD14+/CD95+ в группах ХГС с различными генотипами и в зависимости от биохимической активности достоверных различий не обнаружено по количеству CD14+. Уровень CD14+/CD95+ на моноцитах крови у пациентов ХГС имел прямую зависимость от степени биохимической активности. Корреляционный анализ выявил прямую достоверную связь между количеством CD14+/CD95+ и уровнем АЛТ ($r = 0,61$, $p = 0,03$).

У больных ХГС установлено повышение показателей спонтанного НСТ-теста у большинства больных (до 52%). Обнаружено значимое снижение индуцированного НСТ-теста, сопровождающееся снижением переваривающей способности фагоцитов ($p < 0,05$). У больных с ХГС значимое снижение функции нейтрофильных фагоцитирующих клеток ($p < 0,05$), при этом у 49% пациентов отмечалась функциональная несостоятельность фагоцитов в НСТ-тесте ($p < 0,05$). Выявленная дисфункция, по нашему мнению, связана непосредственно с действием вируса на эти клетки. Метаболический дефект усугубляет дисфункцию фагоцитов и, как следствие этого, имеет место снижение фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов.

Исследование клеточного и гуморального иммунитета у больных ХГС

Ведущая роль в течении ХГС принадлежит состоянию иммунной системы больного и резервным возможностям организма. Полученные результаты исследований свидетельствуют об отчетливых изменениях как клеточного, так и гуморального иммунитета у больных ХГС. В фазе репликации ХГС определяется иммунная недостаточность (таблица 3) клеточного звена иммунитета, о чем свидетельствуют выраженная Т-лимфоцитопения в 58% случаев, снижение содержания CD4+ в 71% случаев, умеренное повышение уровня CD8+ у 49% больных., снижение CD16+ в 56%

случаев и повышение уровня НКТ-клеток (CD3+CD56+) в 67%. Снижение ИРИ выявлено у 57% больных ХГС в репликативной фазе. Достоверно низкая экспрессия CD4 ($31,9 \pm 0,9$, $p < 0,001$) при норме $39,2 \pm 0,3$) у обследуемых больных ХГС в фазе репликации при биохимической активности указывает на достаточно слабый Т-клеточный пролиферативный ответ на антигены ВГС. Достоверное повышение CD8 в фазу репликации в стадию биохимического обострения у больных ХГС в 49% случаев свидетельствует о том, что цитотоксический ответ лимфоцитов недостаточен для элиминации ВГС. Важное прогностическое значение при ХГС имеет ИРИ (CD4/CD8), который в норме равен $1,9 \pm 0,01$. Проведенные исследования показали, что у больных ХГС в фазу реактивации с выраженной биохимической активностью достоверно снижается ИРИ ($1,5 \pm 0,01$, $p < 0,001$). Значимое снижение уровня НК-клеток (CD16) свидетельствует о слабой противовирусной резистентности организма. Максимально выраженное снижение наблюдается у больных в репликативной фазе в стадию выраженного биохимического обострения ($8,2 \pm 0,1$ при норме $10,5 \pm 0,1$, $p < 0,001$) и имеет выраженную корреляцию с ИРИ. Сниженная концентрация CD16 определяет слабую активность НК-клеток и неполноценное участие этого звена в антителозависимом клеточно-опосредованном цитолизе.

Таблица 3

**Показатели Т-клеточного иммунитета у больных ХГС
в зависимости от стадии биохимической активности**

Показатели %	Здоровые	без активности n= 36	Минимальная активность N= 41	Умеренная активность N= 49	Выраженная активность N= 39
CD3	$61,8 \pm 1,7$	$60,7 \pm 1,1$ P>0,05	$59,7 \pm 1,1$ P>0,05 P1>0,05	$56,9 \pm 1,1$ P<0,05 P1>0,05	$55,4 \pm 1,5 \times$ P<0,01 P1<0,05
CD4	$39,5 \pm 1,2$	$38,5 \pm 1,3$ P>0,05	$35,1 \pm 0,8$ P<0,05 P1<0,01	$34,5 \pm 1,1$ P<0,05 P1<0,01	$31,9 \pm 0,9 \bullet$ P<0,001 P1<0,05
CD8	$20,8 \pm 1,1$	$21,9 \pm 1,2$ P>0,05	$22,4 \pm 1,1$ P<0,05 P1<0,05	$24,1 \pm 1,2$ P<0,05 P1<0,05	$25,6 \pm 1,1 \times$ P<0,01 P1<0,05
НК- клетки, CD16	$10,5 \pm 0,8$	$10,2 \pm 0,5$ P>0,01	$9,1 \pm 0,5$ P>0,05 P1>0,05	$8,4 \pm 0,9$ P>0,05 P1>0,05	$7,9 \pm 0,9 \times$ P<0,01 P1<0,05
НК-Т-клетки CD3+CD56	$4,5 \pm 1,1$	$4,4 \pm 0,9^*$ P>0,05	$7,9 \pm 0,9$ P<0,01 P1<0,05	$9,1 \pm 1,1 \times$ P<0,01 P1<0,05	$11,2 \pm 1,2 \times$ P<0,001 P1<0,05
CD95	$5,8 \pm 0,7$	$7,4 \pm 0,9$ P<0,05	$9,6 \pm 1,1$ P<0,05 P1<0,01	$11,4 \pm 0,9 \times$ P<0,05 P1<0,01	$14,7 \pm 0,8 \times \bullet$ P<0,001 P1<0,05
CD25	$7,4 \pm 0,9$	$7,9 \pm 1,2$ P>0,05	$8,9 \pm 1,9$ P>0,05 P1>0,05	$11,7 \pm 1,1$ P<0,05 P1>0,05	$17,2 \pm 2,1 \times$ P<0,05 P1<0,05
CD4/CD8 ИРИ	$1,8 \pm 0,1$	$1,75 \pm 0,1$ P>0,05	$1,61 \pm 0,1$ P<0,05 P1>0,05	$1,5 \pm 0,1$ P<0,05 P1<0,05	$1,44 \pm 0,09 \times$ P<0,001 P1<0,001

Примечание: P – достоверность различий по отношению к группе здоровых;
P1 – достоверность различий по сравнению с группой без биохимической активности;
× – достоверность различий по отношению к группе с минимальной б/х активностью
• – достоверность различий по отношению к группе с умеренной б/х активностью

НК-Т-клетки выполняют критическую роль в повреждении печени через эффекторные механизмы, вовлекая Т-лимфоциты и макрофаги в иммуноопосредованное воспаление печени. Обнаружено достоверное и значимое повышение уровня НК-Т-клеток у большинства больных ХГС, вне зависимости от стадии заболевания (таблица 3). Показатели НК-Т-клеток значимо выше у больных ХГС в фазе репликации при биохимической активности. При этом нет корреляции с основными клинико-лабораторными синдромами, показателями клеточного иммунитета (CD3, CD4, CD8, NK, ИРИ). Показатели НК и НК-Т клеток имеют характерные изменения в зависимости от стадии ХГС. Так, в начале фиброзных изменений при ХГС число НК клеток снижалось с $10,8 \pm 0,6\%$ до $7,3 \pm 0,9\%$. По мере прогрессирования фиброза печени число НК-Т возрастало до $12,8 \pm 1,3\%$, а при ЦП (n=6) наблюдается подъем НК-клеток и снижение НКТ-клеток, что дает возможность использовать эти показатели в качестве маркеров прогрессирования фиброза.

Наши исследования указывают, что уровень CD95 достоверно выше у больных ХГС и зависит от активности процесса (таб.4). Являясь универсальным биологическим механизмом, апоптоз при ХГС может приводить к избыточной гибели не только гепатоцитов, но и другие клеточные популяции (CD3, CD4, CD14CD95), отражая либо системный иммуновоспалительный ответ на инфекцию, либо внепеченочную персистенцию вируса.

Таблица 4

Показатели гуморального звена иммунитета в зависимости от активности ХГС

Показатели %	Здоровые	без активности N= 36	Минимальная активность N= 41	Умеренная активность N= 49	Выраженная активность N= 39
CD19	$11,5 \pm 0,9$	$11,9 \pm 0,9$ P>0,05	$12,9 \pm 0,8$ P>0,05 P1<0,05	$13,7 \pm 0,8$ P<0,05 P1<0,05	$14,1 \pm 0,9 \times$ P<0,001 P<0,05
IgA, г/л	$2,14 \pm 0,3$	$2,1 \pm 0,25$ P>0,05	$2,2 \pm 0,2$ P>0,05 P1>0,05	$2,2 \pm 0,2$ P>0,05 P1>0,05	$2,31 \pm 0,18$ P>0,05 P>0,05
IgM, г/л	$1,3 \pm 0,2$	$1,3 \pm 0,2$ P>0,05	$1,35 \pm 0,2$ P>0,05 P1>0,05	$1,54 \pm 0,18$ P>0,05 P1>0,05	$1,7 \pm 0,3$ P<0,05 P<0,05
IgG, г/л	$12,1 \pm 0,3$	$12,9 \pm 0,5$ P>0,05	$13,9 \pm 0,3$ P<0,05 P1>0,05	$15,1 \pm 0,5$ P<0,05 P1>0,05	$17,2 \pm 0,5 \times$ P<0,001 P<0,05
ЦИК, ед	$101,4 \pm 7,4$	$122,8 \pm 6,2$ P<0,05	$141,8 \pm 3,6$ P<0,01 P1<0,05	$152,1 \pm 4,1 \times$ P<0,001 P1<0,01	$171,6 \pm 4,9 \times *$ P<0,001 P<0,05

Примечание: P – достоверность различий по отношению к группе здоровых;

P1 – достоверность различий по сравнению с группой без биохимической активности;

× – достоверность различий по отношению к группе с минимальной б/х активностью

* – достоверность различий по отношению к группе с умеренной б/х активностью

Изменения клеточного иммунитета в зависимости от активности процесса характеризуются депрессией (CD14+, CD16+, ФА) киллерных механизмов цитотоксической активности, ИРИ, повышением уровня CD3+CD56+, CD8+, уровня апоптоза Т-лимфоцитов CD95+, наиболее значимы изменения в группе с выраженными клиническими проявлениями.

Исследование гуморального иммунитета показало достоверное повышение В-лимфоцитов (CD19+), IgM, IgG, ЦИК у больных ХГС в репликативной фазе. Исследование показателей гуморального иммунитета в зависимости от стадии заболевания характеризуются максимальными проявлениями в стадию выраженной биохимической активности (табл.4).

В фазу реактивации у больных ХГС активизируется В-клеточное звено (таблица 4), на что указывают полученные данные о достоверно повышенном уровне В-лимфоцитов ($14,1 \pm 0,9$ при норме $11,5 \pm 0,9$). Это свидетельствует об активном участии В-лимфоцитов в противовирусном иммунитете, но не достаточно эффективном при ХГС.

Количество IgM достоверно повышено у 46% больных ХГС в фазе репликации и у 24% больных в латентную фазу с биохимическим обострением, его уровень коррелирует с количеством АЛТ. Поликлональная иммуноглобулинемия рассматривается как показатель нарушения функциональной способности печени и встречается в наших исследованиях в 7% случаев. Повышенный уровень ЦИК может быть показателем предрасположенности этой категории больных к развитию иммунопатологических реакций и ассоциации HCV-инфекции с рядом аутоиммунных заболеваний, что совпадает с мнением некоторых исследователей (Апросина З.Г. с соавт, 1999). Полученные данные о Т- и В- лимфоцитах указывают на нарушение равновесия в активации иммунного ответа по пути доминирования Th2-типа при ХГС.

Показатели иммунитета при ХГС в зависимости от генотипа ВГС

Результаты сравнительного анализа групп с различными генотипами представлены на рисунке 4. Снижение ИРИ происходит за счет снижения CD4 и значимого повышения CD8, что является характерным признаком поздней стадии ХГС. При сравнительном анализе между генотипами 3а и 1b отмечается статистически значимое ($P < 0,01$) повышение НКТ-клеток (CD3+CD56+) и апоптоза CD95 у больных ХГС с генотипом 1b. Не выявлено значимых различий в содержании CD25 в сравниваемых группах, понижение уровня CD25 наблюдалось при 3а генотипе в 14,1% случаев, а с 1b генотипом у 6% больных. У больных с прогрессированием заболевания Ф4 (6 случаев) с 1b генотипом ИРИ был выше нормы.

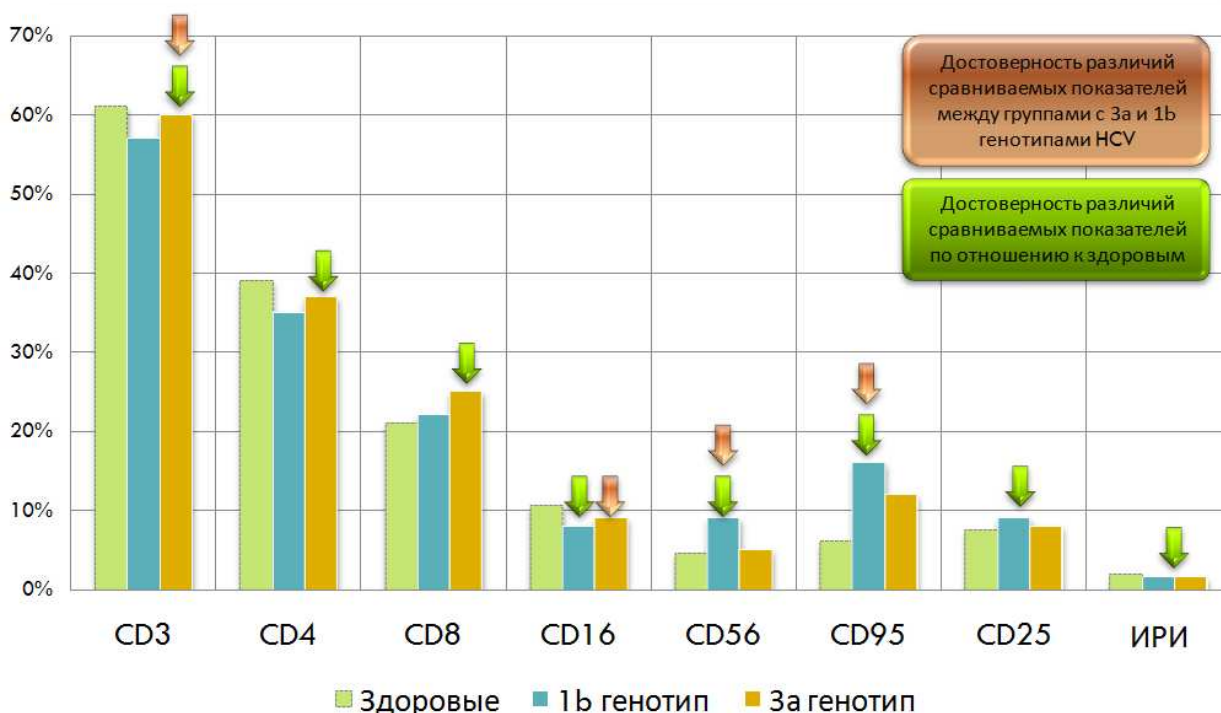


Рис. 4. Показатели клеточного иммунитета у больных ХГС в зависимости от генотипа HCV

Исследование гуморального звена иммунитета выявило повышение в обеих группах содержания относительного числа В-лимфоцитов, концентрации IgM и ЦИК (рис.5.). При сравнении с группой здоровых выявлено, что при генотипе 3а увеличено количество В-лимфоцитов и IgA, при этом снижена концентрация активированных В-лимфоцитов CD19CD25, а в группе больных ХГС с 1b генотипом повышена концентрация IgG.

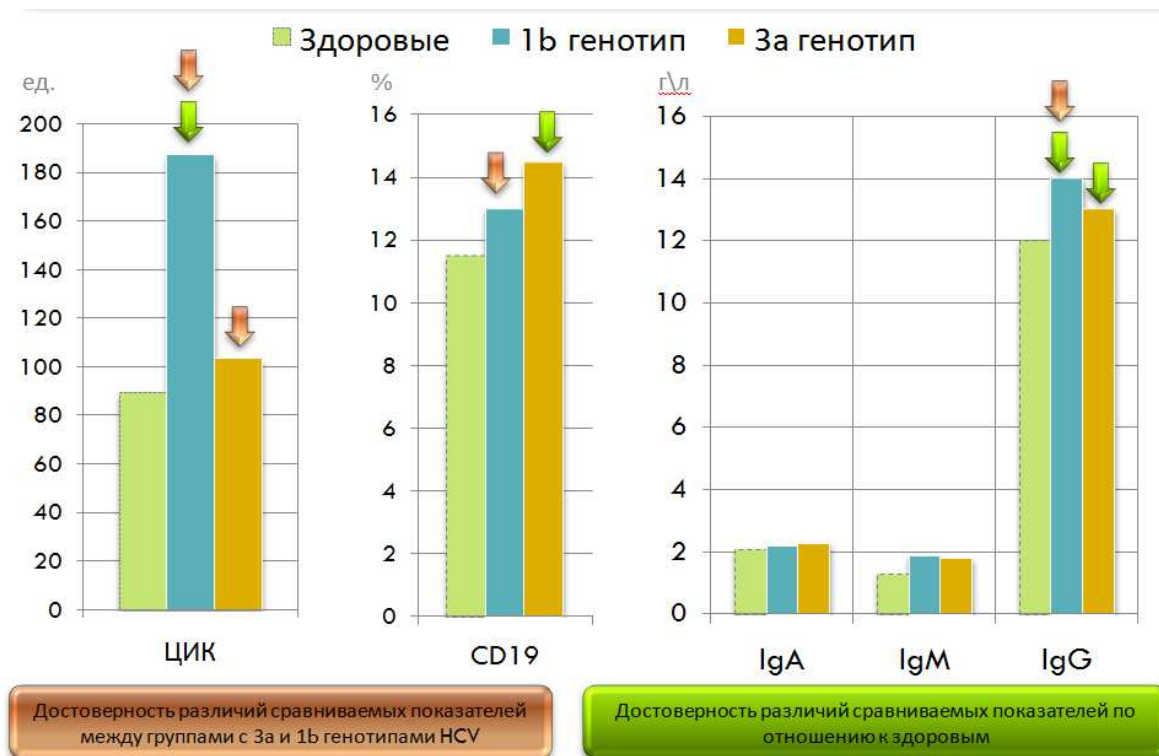


Рис. 5. Состояние гуморального иммунитета в зависимости от генотипа HCV

При сравнительном анализе показателей гуморального иммунитета в зависимости от генотипа при ХГС обнаружено достоверное повышение уровня ЦИК в группе с 1b генотипом. Результаты исследований свидетельствуют, что статистически значимые изменения уровней НК-Т-клеток, активированных Т-лимфоцитов, ЦИК ассоциируется с 1b генотипом ВГС. Именно эти факторы и связаны с выраженностью фиброза и прогрессированием процесса.

Анализ корреляционных взаимосвязей между генотипом ВГС и клинико-иммунологическими показателями выявил статистически значимые корреляции и подтвердил, что более высокий уровень ЦИК ассоциируется с генотипом 1b ($r=0,79$, $p=0,001$). При 1b генотипе установлены прямые корреляции (рис. 6) между возрастом и уровнем CD3 ($r=0,65$; $p=0,005$), количеством CD8 ($r=0,51$; $p=0,015$), концентрацией IgM ($r=0,54$; $p=0,008$). Установлена прямая корреляционная связь между возрастом и концентрацией ФНО- α в сыворотке крови больных ХГС ($r=0,45$; $p=0,046$), обратная корреляция между возрастом и концентрацией ИЛ-6 в сыворотке крови ($r=-0,47$; $p=0,049$). Таким образом, полученные данные указывают, что с возрастом у больных ХГС с 1b генотипом повышаются уровни CD3, ЦТЛ (CD8), IgM и ФНО- α в сыворотке крови при снижении поглотительной способности нейтрофилов и содержания ИЛ-6. По нашему мнению, увеличение количества ЦТЛ у пациентов с генотипом 1b с возрастом является повреждающим фактором печени и способствует прогрессированию заболевания. В группе больных ХГС с генотипом 3а выявлена статистически значимая прямая

Таким образом, в ходе комплексного исследования выявлено, что при 1b генотипе ВГС иммунные нарушения характеризуются достоверным повышением уровней НК-Т-клеток (CD3+CD56+), ЦТЛ (CD8+), ЦИК, активированных Т-лимфоцитов (CD25+), ФНО-а, ИЛ-10 и прямой корреляционной связью этих показателей с фиброзом печени. Эти показатели могут быть использованы как иммунологические критерии диагностики прогрессирования ХГС с 1b генотипом.

Состояние интерфероновой системы (ИФН-системы) у больных ХГС

При изучении показателей ИФН-статуса у больных ХГС выявлены различные степени угнетения способности лейкоцитов продуцировать разные типы ИФН. В результате исследования обнаружено повышение содержания сывороточного ИФН в 27% случаев, дефект ИФН-α в 70% случаев и ИФН-γ в 79% случаев. Нарушения в интерфероновой системе выявлены у всех больных ХГС в репликативной фазе. Сравнительные значения показателей ИФН-статуса у больных ХГС в зависимости от активности процесса показаны на рис. 7.

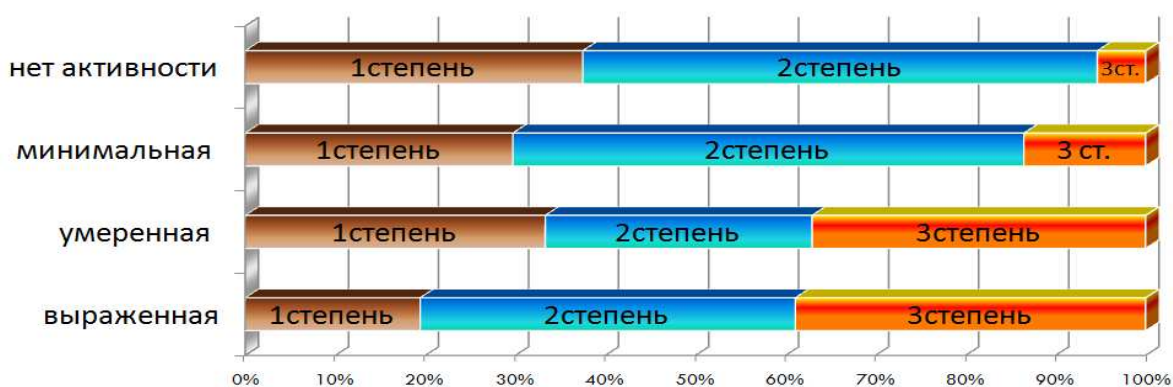


Рис.7. Степени угнетения ИФН-системы при ХГС в зависимости от активности процесса

Определены три степени угнетения ИФН системы: 1 - умеренная реакция у 27% пациентов, 2 - слабая (недостаточная) реакция у 44% и 3 степень - депрессия ИФН системы у 29% больных. Наблюдается корреляция ИРИ со степенью угнетения ИФН системы. Средние показатели при ХГС в наших исследованиях составили: сывороточный ИФН $5,7 \pm 0,7$ (норма $2,9 \pm 0,3$), индуцированный ИФН-α составила $32,9 \pm 5,7$ (при норме ИФН-α $78,1 \pm 4,1$), а ИФН-γ - $18,5 \pm 1,5$ (при норме ИФН-γ $27,1 \pm 3,8$). У больных ХГС с недостаточностью и депрессией ИФН-системы регистрировался умеренный дефицит функции нейтрофильных фагоцитирующих клеток.

В зависимости от фазы и стадии заболевания изменяются показатели ИФН-статуса: чем активнее процесс, тем более значимые нарушения в ИФН-системе. Показатели ИФН статуса не зависят от генотипа и цитолиза, но имеют прямую корреляцию с иммунорегуляторным индексом.

Цитокиновый статус у больных ХГС и его роль в иммунопатогенезе

Учитывая выраженную дисфункцию иммунитета у больных ХГС, проведены исследования цитокинового профиля в сыворотке крови. Полученные результаты свидетельствуют (рис.8) о достоверном повышении концентрации ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-12, ФНО-α и значимом снижении уровней ИФН-γ и ИЛ-2 по сравнению с уровнем цитокинов контрольной группы.

Ведущие синдромы и системные реакции при ХГС могут быть обусловлены значительным повышением концентраций ФНО- α ($201,5 \pm 9,4$) и ИЛ- 1β ($78,1 \pm 5,7$) при норме $21,2 \pm 1,1$ и $15,1 \pm 1,2$, соответственно. Статистически значимо повышенная концентрация ФНО- α подтверждает важную роль этого цитокина в клеточных иммунных реакциях. Выраженная гиперпродукция ФНО- α вызывает цитотоксический эффект и повреждение печени. По результатам исследований наблюдается достоверное повышение концентраций ИЛ-6 ($p < 0,001$), ИЛ-10 ($p < 0,01$), ИЛ-12 ($p < 0,05$), ИЛ-4 ($p < 0,01$) при ХГС в зависимости от активности процесса (рис.5). Значимое повышение уровня ИЛ-12 может быть одним из механизмов угнетения выработки ИФН- γ . Уровень ИЛ-10 в сыворотке крови достоверно повышен у больных ХГС с биохимическим обострением, значимо снижается, но остается повышенным и в стадии биохимической ремиссии ($p < 0,05$). Механизм угнетения ИЛ-10 клеточного иммунитета и подавления воспаления связан с угнетающим его действием на антигенпрезентацию и продукцию цитокинов активированными Th1-типа. Уровень ИЛ-2 при ХГС в репликативной фазе значимо ниже показателей группы здоровых ($1,1 \pm 0,7$ при норме $4,3 \pm 0,9$). Именно ИЛ-10 отвечает за угнетение клеточного иммунитета и подавление реакции воспаления, подавлением уровня ИЛ-2, что способствует снижению внутриклеточного противовирусного иммунного ответа.

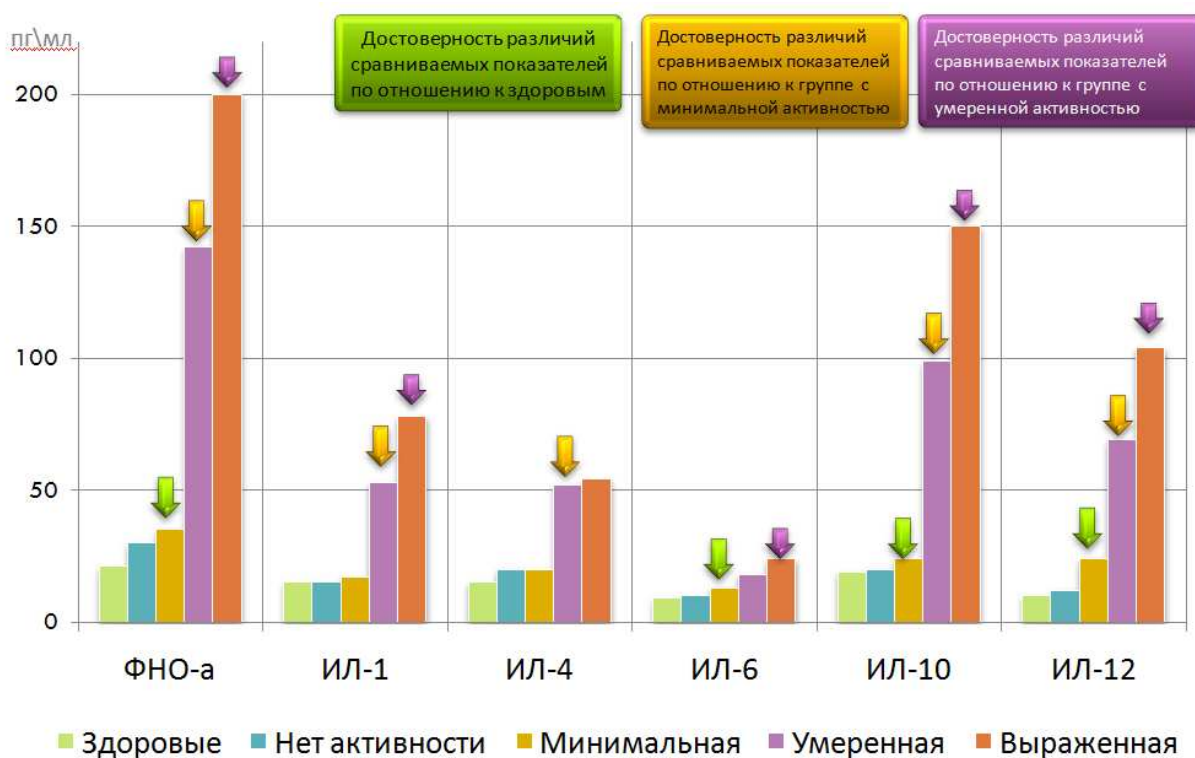


Рис. 8. Цитокиновый профиль при ХГС в зависимости от стадии биохимической активности

Статистически достоверных корреляций ИЛ-2 с клинико-лабораторными показателями или генотипами ($p > 0,05$) не выявлено. В ряде случаев (11%) повышение уровня ИЛ-4 сочеталось с повышением уровня ИЛ-2, указывая на одновременное включение функций Th1 и Th2. Отмечено, что из всех исследуемых интерлейкинов с достоверно повышенным уровнем при слабом и умеренно выраженном фиброзе чаще всего возрастает концентрация ИЛ-4 (72% случаев). Обнаруженный дисбаланс в цитокиновой системе скорее отражает общую тенденцию заболевания и зависит от стадии процесса. Сравнительный анализ содержания цитокинов в сыворотке крови у больных

ХГС в зависимости от генотипа статистически значимых различий между исследуемыми цитокинами и генотипом ВГС не выявил.

Путем исследования корреляционных взаимосвязей цитокинов с клинико-лабораторными и морфологическими параметрами (таблица 5) выявлена прямая корреляция ИЛ-1, ИЛ-10, ИЛ-12 с уровнем АЛТ, что указывает на выраженный иммунопатологический характер нарушения при ХГС. Установлена прямая корреляция между концентрацией ИЛ-12 и выраженностью цитолиза ($r=0,95$; $p=0,01$). Показатели ИЛ-10 зависят от стадии и активности заболевания, выявлена прямая корреляция с уровнем АЛТ ($r=0,91$; $p=0,001$). Статистически достоверная выраженная прямая корреляция уровней ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-6, ИЛ-12 с выраженностью фиброза указывает на гиперактивацию СФМ, что объясняет системные проявления инфекции. Высокая прямая корреляция ФНО- α , ИЛ-12, ИЛ-10 со степенью фиброза позволяет эти показатели использовать в качестве дополнительных диагностических критериев течения и прогноза ХГС.

Таблица 5

Коэффициенты корреляции между клинико-лабораторными показателями и уровнем цитокинов в сыворотке крови

Показатели	ИЛ-1	ИЛ-2	ИЛ-4	ИЛ-10	ФНО- α	ИФН- γ	ИЛ-6	ИЛ-12
Длительность Заболевания	0,54	-0,93*	0,4	0,7	0,7	-0,94*	-0,47*	0,4
Тяжесть и/или боли в правом подреберье	0,71	0,5	0,97*	0,64	0,97*	0,5	0,67	0,5
Гепатомегалия	0,5	0,4	0,91*	0,51	0,98*	0,2	0,54	0,2
Индекс фиброза	0,41	0,6	0,85*	0,91*	0,93*	0,4	0,81*	0,84*
Воспалительная Инфильтрация	0,5	0,45	0,4	0,89*	0,94*	0,53	0,75	0,91*
АЛТ	0,98*	0,5	0,5	0,98*	0,7	0,5	0,34	0,95*
Лимфоаденопатия	0,41	0,49	0,91*	0,6	0,9*	0,2	0,4	0,89*

Примечание: * – достоверность уровней значимости ($p<0,05$)

Высокой степени прямая корреляция ИЛ-1 β , ИЛ-10, ИЛ-12 с уровнем АЛТ указывает на выраженный иммунопатологический характер течения ХГС, в основе которого дисбаланс соотношений про- и противовоспалительных цитокинов. Не обнаружены достоверные различия показателей ИФН- γ и ИЛ-4 в зависимости от клинических показателей. Отмечено, что в зависимости от выраженности фиброза повышаются концентрации ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-12 и ФНО- α . Высокой степени корреляция ФНО- α , ИЛ-10, ИЛ-12 со степенью фиброза позволяет эти показатели использовать в качестве дополнительных диагностических критериев течения и прогноза. ХГС.

При ХГС наблюдается несостоятельность функционирования иммунитета, что выражается стойким нарушением клеточного иммунитета с гипосупрессией CD3, CD4, значимым снижением ИРИ, CD16, CD14, повышением уровня CD8, CD19, CD3CD56, CD95 и выраженным нарушением активации лимфоцитов и дисфункцией СФМ. Определяются значимые нарушения в ИФН-статусе с достоверно сниженной продукцией индуцированного ИФН- α/β и ИФН- γ , определяется гиперпродукция ИЛ-1 β , ИЛ-10, ФНО- α , ИЛ-4, ИЛ-12 и ИЛ-6, уровень которых определяет степень выраженности повреждения печени и стадию заболевания. Имеет место умеренная активация фагоцитов

с истощением резервных возможностей кислородозависимых механизмов их бактерицидности, сопряженной с гиперпродукцией монокинов. Результаты исследований показателей иммунитета и цитокиновой системы у больных ХГС определяют поиск препаратов для коррекции выявленных нарушений у больных ХГС.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ

С целью разработки нового подхода к модуляции восстановительных процессов печени и лечению воспаления путем воздействия на СФМ проведены исследования на 2 моделях экспериментального гепатита:

1. На модели токсического гепатита изучить роль макрофагов (МФ) в регенерации печени и влияние аминофталгидрозида на функциональную активность СФМ (институт иммунологии и физиологии УрОРАН, г. Екатеринбург отв. исполнитель - к.м.н. Медведева С.Ю.)

2. Изучение влияния мурамилдипептида и аминофталгидразида на динамику морфологических изменений печени, а также функциональное состояние клеток тимуса и селезенки мышей В1b/c при Кон А-индуцированном гепатите проведено в совместной работе с лабораторией клинической иммунологии Института морфологии человека РАМН (отв. исполнитель – к.м.н., Обернихин С.С.).

β -Гептилгликозид N-ацетилмурамил-L-аланил-D-изоглутамина (МДП) любезно предоставлен для экспериментальных исследований профессором кафедры клинической иммунологии ГОУ ВПО ПМ ГМУ им. И.М. Сеченова Калюжиным О.В. Аминофталгидрозид (АФГ) любезно предоставлен профессором Абидовым М.Т. (НИИ Иммунопатологии, г. Москва).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты проводились на крысах популяции Wistar и беспородных крысах–самцах с исходной массой 180-250 граммов, мышах – самцах C57BL/6, беспородных мышах, которые находились на обычном пищевом рационе вивария в соответствии с правилами, определенными приказом «О нормах кормления лабораторных животных и продуцентов» М № 163 от 10.03.1966г. Изменения функционального состояния СФМ достигались введением всем экспериментальным животным в качестве активатора макрофагов лекарственного препарата (внутримышечно в дозе 2мг/кг). Состояние регенераторных процессов изучали в печени и костном мозге, обладающих разными типами восстановительных процессов и скоростью физиологической регенерации. Репаративную регенерацию исследовали в печени на модели частичной гепатэктомии.

Для создания модели токсического гепатита использовали тетрахлорметан (ССL₄), который вводился животным однократно внутрибрюшинно в дозе 50 мг/кг веса. Инъекции АФГ экспериментальным животным осуществлялись в течение всего эксперимента внутримышечно из расчета 2 мг/кг, контрольным крысам водили аналогичную дозу физиологического раствора. Животные были выведены из эксперимента на 3 и 7 сутки после моделирования токсического гепатита. Для характеристики функционального состояния печени использовались общепринятые в биохимической практике методики, характеризующие ее роль в основных видах обмена веществ (белковом, углеводном, пигментном).

В опытах с Кон-А-индуцированным гепатитом использовали мышей-самцов инбредной линии Valb/c массой тела 18-20 г, полученных из филиала «Столбовая» ГУ Научного центра биомедицинских технологий РАМН. Животных содержали в пластмассовых клетках на естественной диете в виварии НИИ морфологии человека РАМН.

Для индукции Кон А-гепатита животным под эфирным наркозом внутривенно вводили на Кон А («Pharmacia», Швеция) в дозе 10 мг/кг массы тела в 200 мкл физиологического раствора. МДП вводили внутрибрюшинно в дозах 0,04 мг/кг, 0,2 мг/кг и 1 мг/кг в 200 мкл 0,9% раствора NaCl либо за 2 часа до, либо через 2 часа после инъекции Кон А. Мышам

контрольной группы вводили внутривенно 200 мкл 0,9% раствора NaCl за 2 часа до инъекции Кон А. АФГ вводили внутривенно в дозах 0,5 мг/кг, 2 мг/кг и 10 мг/кг в 200 мкл воды для инъекций либо за 2 часа до, либо через 2 часа после инъекции Кон А. Животных забивали на 3 и 7 сутки после введения КонА под эфирным наркозом методом цервикальной дислокации. Выделяли печень для морфологических исследований, а также селезенку и тимус для функциональных тестов. Для суждения о норме для морфологических и иммунологических исследований в работе использовали органы, выделенные у интактных мышей, не подверженных каким-либо воздействиям.

Исследования показали, что в печени экспериментальных животных на 3 сутки развиваются типичные признаки токсического гепатита в виде очаговых некрозов гепатоцитов с перифокальной лимфо-лейкоцитарной инфильтрацией, выраженной диффузной вакуольной дистрофией гепатоцитов, (анизцитоз, анизонуклеоз), нарушения микроциркуляции в виде полнокровия и капилляростаза. На фоне АФГ на 3 сутки эксперимента в печени признаки токсического гепатита менее выражены, отмечаются увеличение количества митотически делящихся клеток, снижаются признаки воспаления, (полиморфно-ядерные лейкоциты в инфильтратах единичны). На 7 сутки исследования признаки поражения печени уменьшаются, но сохраняются очаги некроза гепатоцитов с умеренной перифокальной инфильтрацией лимфоцитами, определяется зернистость гепатоцитов и клетки с признаками крупно-капельной вакуольной дистрофией, а на АФГ очаговые некрозы без перифокальной клеточной реакции (есть только по периферии дольки). Зернистость гепатоцитов сохраняется, гепатоциты с вакуольной дистрофией не обнаруживаются.

Модуляция активности макрофагов выбранными препаратами оказывает на гепатоциты мембраностабилизирующее действие и активность аминотрансфераз животных достоверно снижается в обеих группах, более значимо в группе с АФГ.

После введения Кон-А нарастает инфильтрация печени лимфоцитами. Массивность поражения печени объясняется эндотоксинемией, возникающей вследствие нарушения кровотока и возрастания проницаемости брыжеечных сосудов из-за поражения органа. На 3 сутки определялись обширные очаги некроза, выраженные дистрофические изменения гепатоцитов. При введении Кон-А в сочетании с МДП в дозе 1 мг/кг в печени некрозы не выявлены, отмечался анизцитоз гепатоцитов, увеличивалось число неэпителиальных клеточных элементов. а в дозе 0,2 мг/кг МДП в препаратах печени выявлялись мелкие очаги некрозов (5-10 гепатоцитов) и умеренные дистрофические изменения гепатоцитов. При введении Кон А сочетании с АФГ наблюдалось снижение альтеративных изменений в печени при введении препарата в дозе 2 мг/кг, отсутствие повреждения в дозе 10 мг/кг АФГ.

По результатам экспериментального исследования доказано:

1. Исходное состояние СФМ влияет на регенерацию поврежденной ткани, восстановительные процессы регулируются как системой фагоцитирующих мононуклеаров, так и опосредовано через цитокины (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α). Показано, что целенаправленное воздействие на макрофаги АФГ и МДП купирует симптомы эндогенной интоксикации и восстанавливает поврежденные ткани.
2. АФГ не влияет на специфические функции исследованных органов, и его можно использовать с целью управления регенерацией без опасения спровоцировать нарушение их функций.
3. МДП оказался мощным стимулятором основных звеньев противоинфекционного иммунитета в модельных тест-системах с выраженным дозозависимым эффектом профилактического и лечебного эффекта.
4. Морфологические данные убедительно подтверждают иммуномодулирующие и гепатопротективные эффекты АФГ и МДП.

В связи с полученными в эксперименте данными большое значение приобретает разработка методов иммунотерапии гепатитов, направленных на стимуляцию

противовирусной защиты и снижение выраженности воспалительного процесса в печени. Введение в схему лечения препаратов, направленного действия на активность системы фагоцитирующих мононуклеаров изменяет выраженность патологических реакций при ХГС.

Оценка эффективности МДП и АФГ в комплексной терапии ХГС

Мурамилдипептиды и аминоксиды характеризуются глубоко изученными клеточными и молекулярными механизмами действия (Абидов М.Т. с соавт., 1999-2007; Калюжин О.В., 2002; Михайлова Л.П., 2006; Данилова И.Г., 2007)., воспроизводимой структурой, предсказуемыми фармакологическими эффектами (Турьянов М.Х. с соавт., 2004; Нагоев Б.С. с соавт., 2005, 2010; Лобанов Д.С., 2009). Результаты многочисленных экспериментальных и клинических исследований говорят о целесообразности их применения при ХВГ.

Для оценки эффективности АФГ и МДП в комплексной терапии ХГС из числа обследованных больных в репликативной фазе с биохимическим обострением сформированы 3 группы, равнозначные и сопоставимые по возрасту, полу, генотипу и активности заболевания. В группах наблюдения преобладали мужчины от 20 до 40 лет, средний возраст $34,4 \pm 3,7$. Стандартную ПВТ получили 17 пациентов; на фоне ИФН-терапии 27 пациентам назначен +МДП по 2 капсулы утром натощак через день (90 капсул на курс) и 29 пациентам назначен + АФГ по схеме (30 фл. на курс). Наблюдение за больными ХГС осуществлялось с соблюдением полного объема исследований, характерных для гепатологического отделения. Оценка биохимического, вирусологического ответа и иммунологической эффективности проводилась на 12 неделе для оценки раннего противовирусного ответа и на 24-48 неделях комплексной терапии. ИФН-статус оценивался по результатам повторного исследования пациентов на 12 неделе и ретроспективно после завершения курса терапии (24-48 неделя). Эффективность проводимой терапии оценивалась в соответствии с общепринятыми критериями.

Биохимическая активность в исследуемых группах в начале лечения в большинстве случаев умеренной степени у 78% больных (АЛТ до 5 норм), высокая степень активности у 28% больных (АЛТ от 5 и выше). Вирусная нагрузка расценивалась высокой при нагрузке более 1млн. копий/мл и встречалась в 43,8% случаев. Выделенные группы больных были сопоставимы по указанным параметрам.

Переносимость в группах +АФГ и +МДП была хорошей, регистрировалось уменьшение жалоб и частоты патологических симптомов. Гепатомегалия на 12 неделе сохраняется у 41% больных стандартной терапии, у 37% в группе с +МДП и 27% больных в группе с +АФГ. Астеновегетативный и диспепсический синдромы на 12 неделе терапии выявлены в 2 раза реже в группе с +АФГ и в 1,5 раза реже в группе с +МДП по сравнению с группой стандартной терапии. Анализ частоты раннего, частичного и полного биохимического ответа дал достоверные различия по уровню АЛТ в сравниваемых группах (рис. 9.). Так, в группе с +АФГ на 4 неделе терапии ранний биохимический ответ у 49% больных, с +МДП у 31% и в группе стандартной терапии у 27% больных. Отсутствие биохимического ответа на 12 неделе в группе стандартной терапии у 28%, а в группе с +МДП у 12% больных, в группе с +АФГ у 3% больных. Побочных эффектов от иммуномодуляторов не наблюдалось (рис.9.), более того побочные эффекты препаратов интерферона в группе с +АФГ были минимальными - 3% случаев и не требовали никакой коррекции. В группе с +МДП побочный эффект ИФН фиксировался у 19% больных, в группе стандартной терапии у 25% больных, скорректирован в большинстве случаев, но 1 больной прервал курс ПВТ на 12 неделе лечения.

Статистически достоверных межгрупповых отличий по вирусологическому параметру не выявлено. Но отмечено, что при терапии ИФН с иммуномодуляторами +АФГ и +МДП, являющимися препаратами патогенетического звена, полный биохимический ответ наблюдается у 68% больных с МДП и 81% с АФГ, а СВО у 27 % в

группе с +АФГ и 31 % в группе с +МДП. В то время как у пациентов с монотерапией ИФН, согласно опубликованным данным по итогам рандомизированных исследований 1998г (Poynard T. et al), 2000г (Barbaro G. et al.) устойчивый вирусологический ответ зарегистрирован в 21% и 19% случаев соответственно.

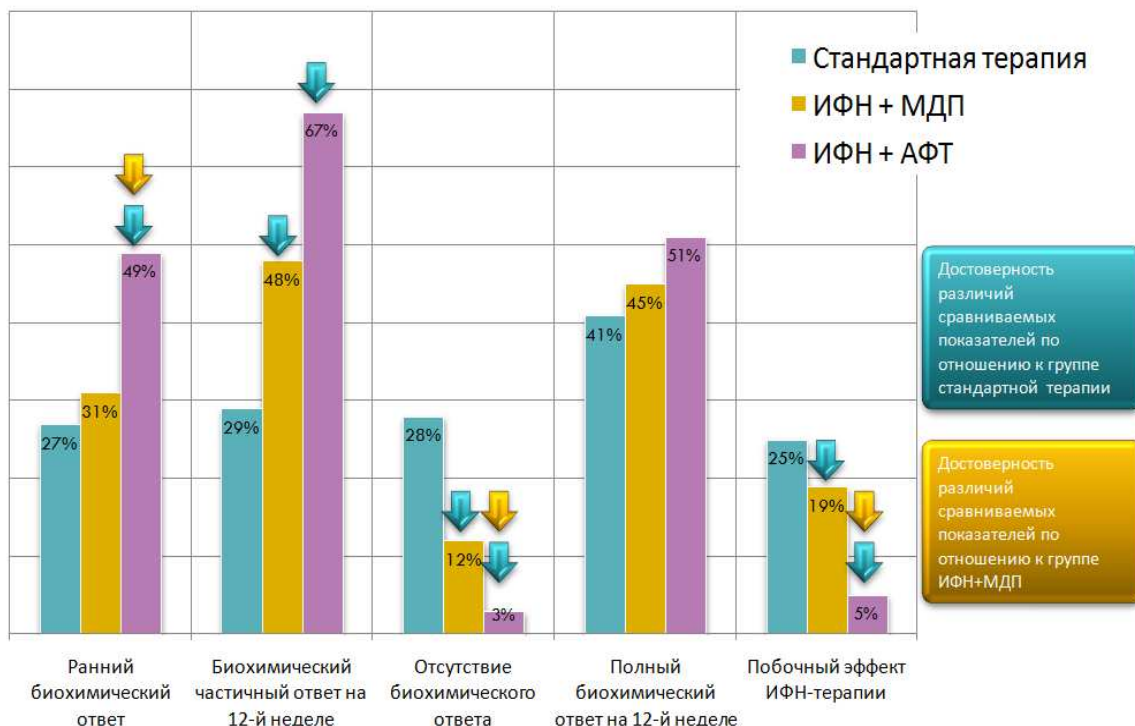


Рис.9. Клиническая эффективность в зависимости от вида терапии

Проведена оценка иммунологической эффективности МДП и АФГ в комплексной терапии ХГС (рис.10.). Содержание CD4+ и CD3+-лимфоцитов достоверно ($p < 0,05$) повысилось по сравнению с исходными данными, более значимо в группе с +АФГ. Кроме того, на фоне лечения обнаружена положительная корреляция ($r = 0,48$, $p < 0,05$) между количеством лимфоцитов, экспрессирующих антиген CD4+ и CD25+

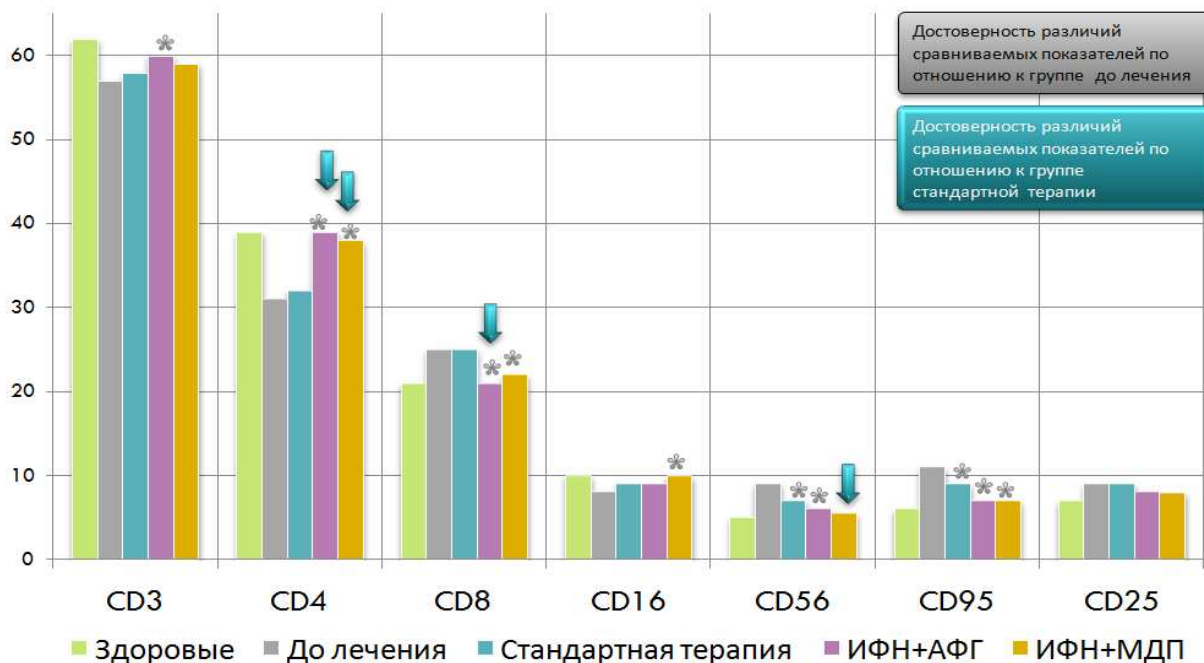


Рис. 10. Показатели клеточного иммунитета у больных ХГС в зависимости от лечения

На фоне лечения +АФГ и +МДП отмечена позитивная иммунологическая динамика: достоверно повышено количество НК-клеток, выросла способность лейкоцитов к синтезу эндогенного интерферона, что формирует и обеспечивает Т-клеточный иммунный ответ по Th1 типу, более выражено в группе с +МДП. Снизился значимо показатель НКТ-клеток (CD3+CD56+) во всех группах наблюдения. Содержание CD8+-лимфоцитов на 12 неделе лечения достоверно снизилось у большинства больных с +АФГ и +МДП (65,5% и 55,6%, соответственно), а в группе стандартной терапии - у 41% больных. Повышение уровня CD4+ и снижение содержания CD8-лимфоцитов (рис.10) привело к повышению иммунорегуляторного индекса ($p < 0,05$). Со стороны фагоцитарного звена иммунитета на 12 неделе терапии выявлено достоверное повышение CD14 и фагоцитарной активности нейтрофилов по сравнению с их исходным уровнем ($p < 0,05$) у всех больных, ответивших на терапию. В группе стандартной терапии сохраняются нарушения в иммунном статусе, но менее выражены, чем до лечения. Наблюдается достоверное снижение уровня апоптоза (CD95) у ответивших на терапию пациентов. Выявлено, что показатель апоптоза иммунокомпетентных клеток (CD14CD95+, CD3CD95+) при эффективной терапии достоверно снижается на 12 неделе у всех больных независимо от вида лечения и этот показатель может быть использован как предиктор эффективности терапии ХГС.

Анализ показателей гуморального иммунитета в зависимости от терапии (рис.11.) выявил достоверные изменения CD19+ во всех группах терапии. Значимые изменения уровня ЦИК и IgG в группах с иммуномодуляторами, выраженная динамика по уровню ЦИК в группе с +АФГ.

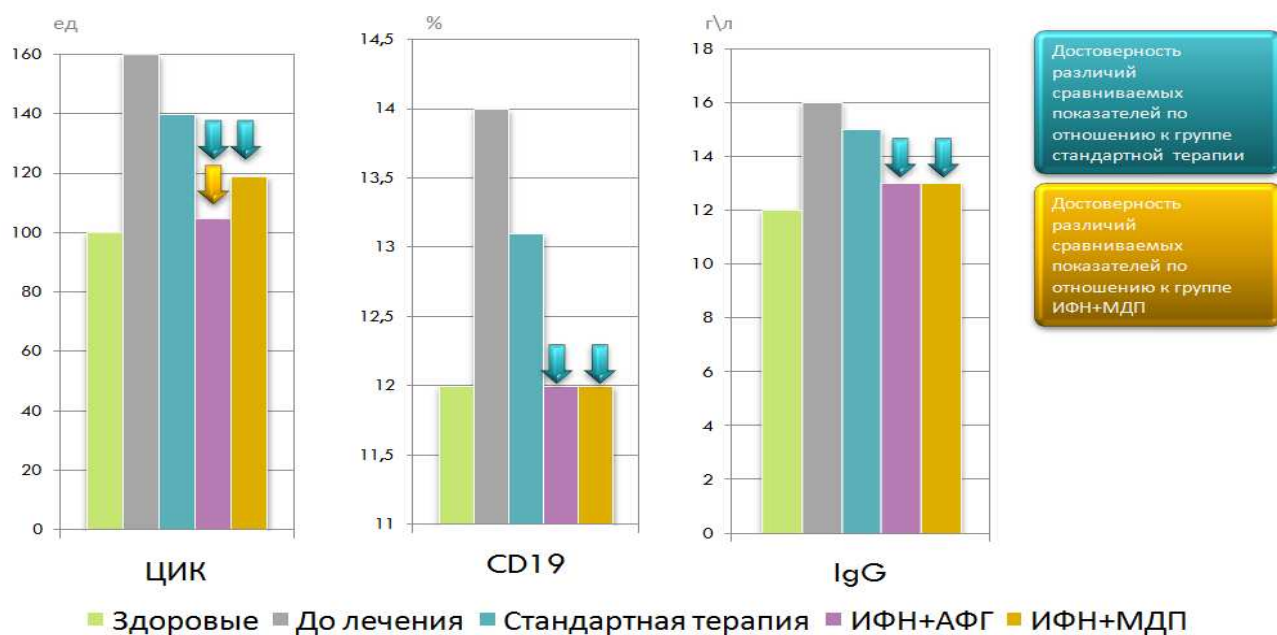


Рис. 11. Показатели гуморального иммунитета у больных ХГ С в зависимости от вида терапии

Таким образом, в иммунограммах после лечения (рис.10, 11) в группах с +АФГ и +МДП отмечали повышение относительного содержания исходно сниженных CD3, CD4, CD16, ИРИ, значимо снижено содержание CD8, CD3CD56, CD95 снижение уровней иммуноглобулинов, ЦИК, наблюдается стимуляция микробицидной системы нейтрофильных гранулоцитов и цитотоксической активности НК-клеток. В группе стандартной терапии сохраняются нарушения в иммунном статусе, но менее выражены, чем до лечения.

Исследования цитокинового статуса в зависимости от лечения (рис.12) определили достоверное снижение уровней исследуемых цитокинов во всех группах терапии, с максимально значимым эффектом в группе +АФГ - по динамике концентраций ФНО-а, ИЛ-6, ИЛ-10. При сопоставлении показателей цитокинов и субпопуляционного состава мононуклеаров крови у больных ХГС установлены следующие статистически значимые результаты: прямая корреляционная связь уровня ФНО-а и количества моноцитов, коэкспрессирующих CD14/CD95+ ($r=0,62$, $p=0,03$); обратная корреляционная связь концентрации ФНО-а и содержания лимфоцитов, экспрессирующих CD25+ ($r = - 0,56$, $p=0,046$). Снижены уровни ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-12, ФНО-а в сыворотке крови больных ХГС при эффективной терапии во всех группах наблюдения. Показатели этих цитокинов могут использоваться как дополнительные критерии эффективности терапии.



Рис. 12. Показатели цитокинов в сыворотке крови у больных ХГ С в зависимости от вида терапии

Критериями иммунологической эффективности иммуномодуляторов является нормализация иммунного статуса и снижение цитокинов ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-12 путем «управления» СФМ. Отмечено, что в группе с иммуномодуляторами чувствительность к препаратам интерферона (78%) и индукторам интерферона (62%) значительно повысилась, что позволяет использовать препараты на подготовительном этапе к ПВТ. Клетки СМФ являются основным источником эндогенного ИНФ- α . По результатам наших исследований на стандартной терапии нет сдвигов и достоверных изменений в иммунном статусе, но улучшается функциональное состояние СФМ. После ИФН-терапии сохранялись низкие значения показателя стимулированного НСТ-теста по отношению к показателям у здоровых, что свидетельствует о сниженном ответе системы фагоцитов на активирующие факторы, истощении их кислородзависимого потенциала при ХГС ($15,79 \pm 0,80$ % против $20,25 \pm 2,14$ %). Отмечено также значимое повышение уровня ответа лимфоцитов на стимуляцию ФГА ($p < 0,05$) во всех группах.

Анализ в динамике состояния ИФН-системы выявил снижение сывороточного ИФН у всех больных наблюдаемых групп (таблица 6). Выраженные изменения по нормализации

ИФН-статуса наблюдаются в группе с +МДП с достоверным повышением уровня продуцируемых ИФН- α и ИФН- γ в 43% и 41% случаев. Стабилизация ИФН системы у 62%, повышение чувствительности к препаратам ИФН в этой группе у 49% больных. В группе с +АФГ повышение продукции индуцированного ИФН- γ в 37%, ИФН- α - в 19% случаев, стабилизация ИФН-системы у 32% больных, повышение чувствительности к препаратам ИФН в этой группе у 34 % больных.

В группе со стандартной терапией ИФН-статус стабилизировался у ответивших на терапию пациентов. Уровень продукции индуцированного ИФН- α возрос на 25%, а ИФН- γ на 31 %. Прогрессирование угнетения ИФН-статуса на 1 степень наблюдалось у 29% (5 больных) больных ХГС. Истощение функциональной активности продуцирующих эндогенный ИФН клеток ухудшает ответ при такой иммунореактивности и объясняет неэффективность терапии.

Таблица 6

Показатели ИФН-статуса при ХГС в зависимости от вида терапии

Показатели	Здоровые N=45	До лечения N=158	ИФН- терапия N=47	+ АФГ N=29	+ МДП N=27
Сывороточный ИФН	2,7 \pm 0,1	7,8 \pm 0,19 P<0,001	4,1 \pm 0,1 p<0,05 P1<0,05	2,5 \pm 0,2 P>0,05 P1<0,001 P2<0,001	2,6 \pm 0,1 P>0,05 P1<0,05 P2<0,05
Индукцированный ИФН- α/β	78,5 \pm 4,8	51,5 \pm 6,1 p<0,01	54,6 \pm 4,5 p<0,05 P1>0,05	59,9 \pm 2,6 p<0,05 P1>0,05 P2>0,05	80,6 \pm 2,1• P>0,05 P1<0,05 P2<0,05
Индукцированный ИФН- γ	30,7 \pm 2,4	19,7 \pm 3,7 p<0,05	20,1 \pm 2,9 p<0,01 P1>0,05	27,3 \pm 3,1 P>0,05 P1<0,05 P2<0,05	29,5 \pm 3,2• P>0,05 P1<0,05 P2<0,05

Примечание: P – достоверность по отношению к здоровым лицам;

P1 – по отношению к показателям до лечения;

P2 – достоверность по отношению к ИФН-терапии;

• – достоверность между группами с иммуномодуляторами

Нами ретроспективно изучена эффективность интерферонотерапии у 42 больных ХГС. ПВТ получили 42 больных ХГС: 24 (57,1%) с 1b генотипом, 18 (42,9%) с 3a генотипом. Длительность лечения больных с 1b генотипом составляла 48 недель, с 3a генотипом – 24 недели. Стандартную терапию получали 20 больных и моно ИФН-терапию 22 пациента. СВО при генотипе 3a составил 50,0%, БО-50%; СВО при генотипе 1b был достигнут у 5 (20,8%) больных, БО-25%.

Оценка эффективности терапии по состоянию ИФН-системы (рис.13) выявила, что степень выраженности позитивности ответа, зависела от степени угнетения ИФН-статуса и 71% больных ХГС с полным ответом оказались в группе с 1 степенью угнетения (p<0,01) и только 5% больных с 3 степенью угнетения ИФН-системы. В группе не ответивших на стандартную терапию 82% больных - с 3 степенью угнетения индуцированной продукции ИФН- $\alpha/$ - γ (p<0,01).

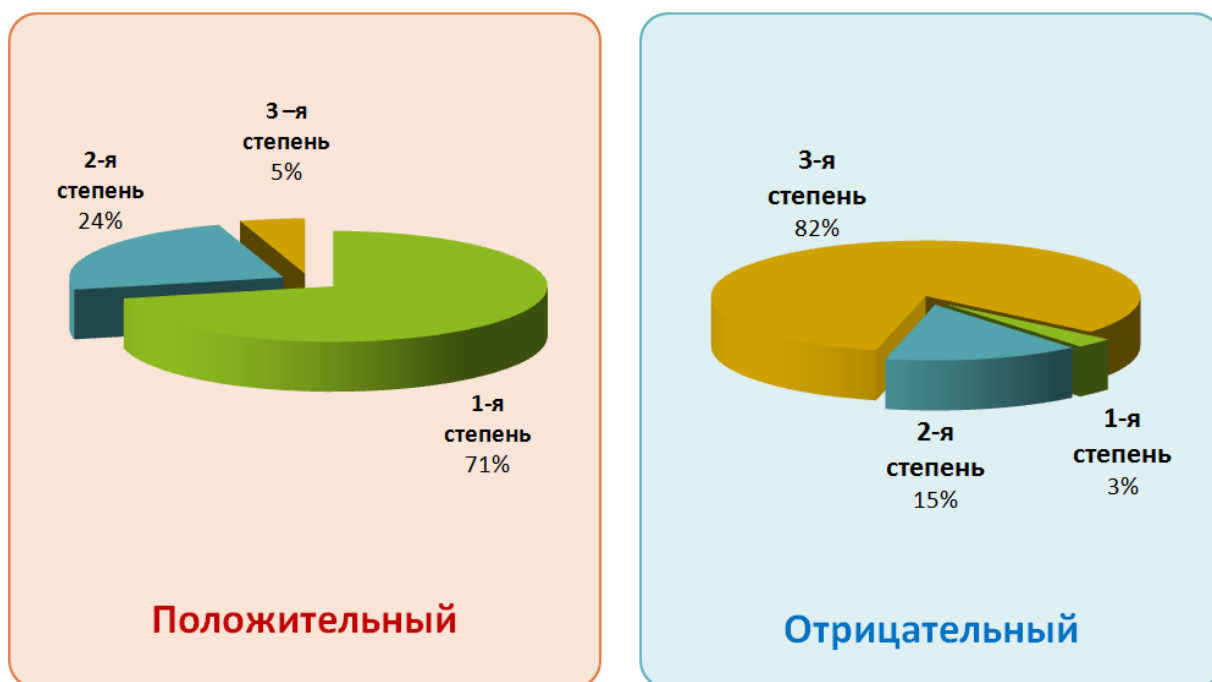


Рис. 13. Анализ эффективности терапии ХГС по состоянию ИФН-системы после лечения

Таким образом, эффективность терапии ХГС зависит от иммунореактивности организма больного, выраженности дисбаланса цитокиновой системы. Несмотря на то, что АФГ и МДП имеют разные механизмы регуляторных эффектов на иммунокомпетентные клетки, конечные результаты их воздействия в целом сходны. Использование иммуномодуляторов оказывало одинаковое по эффекту воздействие на иммунные и функциональные механизмы клеточной защиты организма и положительно влияло на течение ХГС.

АФГ нормализует функционально-метаболический процесс в макрофагах и опосредованно через СФМ воздействует на иммунологическую реактивность, снижая степень аутоагрессии и повышая толерантность организма.

МДП дает стойкий положительный эффект за счет повышения неспецифического иммунитета, с повышением уровня эндогенного интерферона и повышения способности лейкоцитами продуцировать индуцированный ИФН.

Полученные данные о закономерных изменениях клинико-иммунологических показателей свидетельствует об эффективности АФГ и МДП, как препаратов патогенетического звена, обладающих иммуномодулирующим и гепатопротекторным эффектами.

Выводы

1. У больных ХГС с генотипом 1b HCV нарушения иммунитета характеризуются значимым повышением уровня НКТ-клеток (CD3+CD56+), активированных Т-лимфоцитов (CD3+CD25+), циркулирующих иммунных комплексов и прямой корреляционной связью этих показателей со степенью фиброза печени.
2. Для ХГС характерно повышение уровней ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-12, ФНО- α при значимом снижении концентрации ИЛ-2 и индуцированной продукции интерферонов. Выраженная прямая корреляция уровней цитокинов ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-6, ФНО- α с выраженностью стадии фиброза позволяет использовать эти

показатели как дополнительные критерии прогрессии ХГС, а прямая корреляция высокой степени концентраций ИЛ-1 β , ИЛ-10, ИЛ-12 с уровнем АЛТ предполагает, что эти показатели могут быть использованы в качестве дополнительных критериев диагностики течения ХГС.

3. Прогрессирование ХГС сопровождается повышением уровня В-лимфоцитов (CD19+), всех групп иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG), ЦИК и еще большей депрессией киллерных механизмов цитотоксической активности (CD16+), повышением уровня НКТ-клеток (CD3+CD56+), Т-клеточного ответа с активацией их функций (CD4CD25+) при незначительном снижении процессов апоптоза (CD3CD95+) и достоверным нарастанием концентраций ФНО- α , ИЛ-10, ИЛ-12.
4. В эксперименте доказано, что исходное состояние СФМ влияет на регенерацию поврежденной ткани и регуляция восстановительных процессов осуществляется как СФМ, так опосредованно и через секретируемые макрофагами цитокины (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- α), а воздействие на макрофаги препаратами АФГ и МДП снимает симптомы эндогенной интоксикации и восстанавливает поврежденные ткани. На моделях токсического и Кон-А–индуцированного гепатитов имеет место морфологически доказанный гепатопротекторный и иммуномодулирующий эффекты АФГ и МДП.
5. Эффективность терапии ХГС зависит от иммунореактивности организма больного, выраженности дисбаланса цитокиновой системы и состояния ИФН-статуса. Эффективная терапия сопровождается повышением функциональной активности СФМ, устойчивостью к апоптозу МПК и нормализацией цитокинового профиля, стабилизацией интерфероновой системы и клеточного звена иммунитета.
6. Иммунокоррекция АФГ и МДП способствует нормализации количества CD3+, CD4+, CD8+, CD16+ и ИРИ, снижению уровней CD95+, CD3+CD56+, CD19+, IgG и ЦИК в сыворотке крови; нормализация функциональной активности СФМ устраняет дисбаланс в цитокиновом профиле. Несмотря на разный механизм действия АФГ и МДП оба препарата оказывают положительный эффект при включении в комплексную терапию ХГС.

Практические рекомендации

1. Больным ХГС с 1b генотипом для прогнозирования течения заболевания рекомендуется в динамике анализ уровней CD3CD56, ИЛ-10, ИЛ-12, ФНО- α . Как предикторы эффективности терапии у больных ХГС использовать изменения CD95, ИЛ-10, ИЛ-12, ФНО- α .
2. У больных ХГС с выраженной дисфункцией СФМ и снижением ИРИ применение в комплексной терапии АФГ как препарата патогенетического звена вполне обосновано. При угнетении ИФН-системы, особенно у лиц с отягощенным анамнезом по ПИН, рекомендуется назначать МДП для оптимизации терапии ХГС.
3. Курс сочетанной иммунокоррекции (АФГ+МДП) рекомендуется больным ХГС при отсутствии эффекта ПВТ, при рецидиве после ПВТ, наличии противопоказаний к интерферонотерапии или сниженной чувствительности к препаратам интерферонов.

В заключении, считаю своим долгом выразить сердечную благодарность научному руководителю, заслуженному деятелю науки КБР, заведующему кафедрой инфекционных болезней Кабардино-Балкарского госуниверситета им. Х.М. Бербекова, доктору медицинских наук, профессору Нагоеву Беслану Сафарбиевичу за постоянное руководство при выполнении докторской диссертации.

Также выражаю глубокую признательность доктору медицинских наук, профессору Абидову Мусе Тажудиновичу, доктору медицинских наук, профессору Калюжину Олегу Витальевичу за консультации и оказанную помощь в выполнении диссертационной работы, а также за предоставленные препараты для экспериментальной части.

Отдельную благодарность хочу выразить кандидату медицинских наук Медведевой Светлане Юрьевне и доктору биологических наук Даниловой Ирине Георгиевне (Институт Иммунологии и Физиологии УрОРАН, г.Екатеринбург), кандидату медицинских наук Обернихину Сергею Станиславовичу (НИИ морфологии человека РАМН, г.Москва) за консультации и помощь в выполнении экспериментальной части исследовательской работы; признательна коллективу Республиканского центра инфекционных болезней МЗ РФ КБР и сотрудникам кафедры инфекционных болезней медицинского факультета КБГУ за доброжелательное отношение и за содействие в выполнении работы. Бесконечно благодарна родным и близким, друзьям за оказанное внимание и поддержку.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Нагоев Б. С., Понежева Ж. Б. Иммунитет и интерфероновый статус у больных хроническими вирусными гепатитами// Ж-л «Инфекционные болезни». - 2004. -Т.2. - №4. –С. 27-31.
2. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Некоторые аспекты иммунопатологии при хронических вирусных гепатитах// Ж. «Эпидемиология и инфекционные болезни». – 2009. - №6. -С.45-49
3. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Оценка иммунной регуляции у больных хроническим вирусным гепатитом С// Ж. «Инфекционные болезни». - 2009. - Т. 7. - №3. –С.8-11
4. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Роль цитокиновой системы в патогенезе хронического вирусного гепатита С// Ж. «Инфекционные болезни». - 2009. - Т. 7. - №4. –С.12-17
5. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Клинико-иммунологические особенности ХГС// Ж. «Клиническая лабораторная диагностика». - 2010. - №9. - С.38-39
6. Понежева Ж.Б., Обернихин С.С., Калюжин О.В., Данилова И.Г. Динамика морфологических и иммунологических проявлений КонА-индуцированного гепатита у мышей Valb/C при профилактическом и лечебном введении глимурида// Ж. «Вестник Уральской Медицинской Академии Наук». – 2010. - №2. - С.108-110
7. Понежева Ж.Б. Некоторые патогенетические особенности при хроническом гепатите С// Ж. «Инфекционные болезни». - 2010. - Т.8. - №1. - С.249-250
8. Мулик Е.Л., Понежева Ж.Б., Обернихин С.С., Земляков А.Е., Калюжин О.В. Иммуномодулирующий и гепатопротективный эффекты β-гептилгликозида мурамилдипептида на модели гепатита// Ж. «Российский аллергологический журнал». - 2010. - №5. - С.200-203
9. Юшков Б.Г., Данилова И.Г., Понежева Ж.Б., Брыкина И.А., Абидов М.Т., Калюжин О.В. Модуляция репаративной регенерации и экспрессии CD117 клетками печени после частичной гепатэктомии у мышей// Ж. «Бюллетень экспериментальной медицины и биологии». - 2010. - №3. –С.21-23
10. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Система Fas/FasL при хроническом гепатите С// Ж. «Инфекционные болезни». - 2010. - Т.8. - №1. - С.220 - 221
11. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Эпидемиологические и клинико-иммунологические аспекты ХГС в зависимости от генотипа// Ж. «Эпидемиология и вакцино-профилактика». - 2010. - (52). - №.3. - С.48-53

12. Понежева Ж.Б., Караулов А.В., Обернихин С.С., Калюжин О.В. Влияние β-гептилгликозида мурамилдипептида на альтернативные изменения печени и пролиферацию спленоцитов и тимоцитов мышей с гепатитом, индуцированным конканавалином-А// Ж. «Российский иммунологический журнал». - 2010.- Т.4. - №3. - С. 243-247

13. Нагоев Б.С., Абидов М.Т., Понежева Ж.Б. Хронические вирусные гепатиты: иммунопатогенетические, клинико-диагностические и терапевтические аспекты/ Гурип «Адыгея. - Майкоп. - 2005. -304С.

14. Абидов М.Т., Понежева Ж. Б., Абидов А.М. Патент на изобретение №2266118 Мазь для лечения аутоиммунных заболеваний. гос. реестр РФ от 20.12.2005

15. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б., Нагоева М.Х. Цитокины в клинике инфекционных болезней. Научно-методическое пособие. - Нальчик. - 2008. – 42С.

16. Нагоев Б.С, Абидов М.Т, Понежева Ж.Б. Современные клинико-иммунологические аспекты патогенеза хронического вирусного гепатита С - «Полиграфсервис и Т». - Нальчик. - 2010. - 201С.

17. Абидов М.Т., Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Уровни НК-, НК-Т клеток при хронических вирусных гепатитах// в материалах 1 всероссийского конгресса по инфекционным болезням г. Москва 30 марта-1апреля. Ж. «Инфекционные болезни». - 2009. - Том. 7. - приложение 1. –С.4

18. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б., Цитокиновый профиль у больных хроническими вирусными гепатитами В, С, В+С// Известия Кабардино-Балкарского центра РАН. - 2004. -Т.2. - №12. - С.73-46

19. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Показатели иммунного статуса и цитокинового профиля при ХВГ// Ж. «Инфекционные болезни». - 2009. - Том. 7. - приложение 1. –С.150

20. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Уровень апоптоза у больных хроническим вирусным гепатитом С// Ж. «Инфекционные болезни». -2009. - Том. 7. - приложение 1. –С.151

21. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б., Абидов М.Т. Оценка воздействия препарата тамерит на уровень цитокинов в мононуклеарных клетках периферической крови больных вирусным гепатитом// Доклады АМАН. - 2005. –Т.7. - №2. - С.138-142

22. Абидов М.Т., Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Распространение генотипов вируса гепатита С в Кабардино-Балкарии и их клиническая характеристика // В сб. мат. Международной научно-практической конференции «Проблемы клиники, диагностики, терапии гепатитов». – Харьков. - 2005. - С.21-22

23. Понежева Ж.Б. Показатели ИФН-статуса при ХВГ// Ж. «Инфекционные болезни». - 2009. - Том. 7. - приложение 1. – С.170

24. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Особенности иммунного и цитокинового статусов у больных хроническим вирусным гепатитом В и С// В сб. мат. Международной научно-практической конференции «Проблемы клиники, диагностики, терапии гепатитов». - .Харьков. - 2005. - С.149 -150

25. Понежева Ж.Б. Изучение интерферонового статуса у больных хроническими вирусными гепатитами В, С, В+С// В сб. мат. Международной научно-практической конференции «Проблемы клиники, диагностики, терапии гепатитов». г..Харьков, 2005.- С.176 -178

26. Абидов М.Т., Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Состояние иммунитета у больных хроническим вирусным гепатитом // Мат. 1 Южнороссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфекционной патологии Юга России». – Геленджик. - 2005. - С.96-98

27. Абидов М.Т., Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Показатели клеточного иммунитета и цитокинового профиля при ХВГ различной этиологии// В сб. мат. научно-практической конференции «Актуальные вопросы гепатологии: новое в диагностике и терапии». – Махачкала.- 2005. - часть 1. - С.31-42

28. Нагоев Б.С., Абидов М.Т., Понежева Ж.Б. Иммуноterapia хронических вирусных гепатитов// В сб. мат. научно-практической конференции «Актуальные вопросы гепатологии: новое в диагностике и терапии». – Махачкала. - 2005. - часть 2. - С.117-120
29. Нагоев Б.С., Абидов М.Т., Понежева Ж.Б. Влияние тамерита на апоптоз лимфоцитов и на уровень фактора некроза опухоли в мононуклеарных клетках при ХВГ В, С, В+С// В сб. мат. научно-практической конференции «Достижения медицинской науки - практическому здравоохранению» КБГУ им.Х.М. Бербекова, - 2005. - С. 79
30. Понежева Ж.Б. Использование ростков расторопши у больных хроническими заболеваниями печени// В сб. мат. научно-практической конференции «Достижения медицинской науки - практическому здравоохранению» КБГУ им.Х.М. Бербекова, - 2005. - С.90
31. Абидов М.Т., Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Некоторые особенности течения ХВГ, сочетанных с вирусными инфекциями// В сб. мат. Российская научно-практическая конференция «Инфекционные болезни: проблемы здравоохранения и военной медицины». - Санкт-Петербург. - 2006. - С.12
32. Абидов М.Т., Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Показатели иммунитета и цитокинового статуса у больных ХВГ при сочетанных вирусных инфекциях// Вестник КБГУ. Серия медицинские науки. - выпуск 9. – С. 47-49
33. Понежева Ж.Б. Состояние Т-клеточного иммунитета у больных хроническими вирусными гепатитами// В сб. мат. Второй южнороссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы инфекционной патологии юга России». - 2006. - С.84-86
34. Понежева Ж.Б. Использование продукции LEAGUE в лечении хронических вирусных заболеваний печени // В сб. «Достижения медицинской науки - практическому здравоохранению». – Нальчик. - 2007. - С.103-105
35. Абидов М.Т., Понежева Ж.Б., Абидов А.М. Иммунореабилитация больных хроническими гепатитами смешанного генеза (вирусный+токсический) // В сб. «Достижения медицинской науки - практическому здравоохранению». – Нальчик. - 2007. - С.11-13
36. Нагоев Б.С., Абидов М.Т., Понежева Ж.Б. Влияние иммуномодуляторов на соотношение Th1/Th2 при хронических вирусных гепатитах В, С // В сб. «Достижения медицинской науки - практическому здравоохранению». – Нальчик. - 2007. - С.90-92
37. Понежева Ж.Б. Оценка уровня NK- и NK-T клеток при ХВГ В, С, В+С // В сб. мат международной конференции «Хвороба печінки в практично клинициста». – Харьков. - 2007. – С.247-248
38. Абидов М.Т., Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Апоптоз лимфоцитов периферической крови у больных ХВГ // В сб. мат международной конференции «Хвороба печінки в практично клинициста». – Харьков. - 2007. – С.24
39. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Интерфероновый статус при ХВГ и ЦП//В сб. Мат. 3 южно- российской научно-практической конференции с международным участием. – Сочи. - 2008. - С.119-122
40. Понежева Ж.Б. Оценка эффективности иммуномодуляторов при ХВГ В, С, В+С// В сб. Мат. 3 южно- российской научно-практической конференции с международным участием. – Сочи. - 2008. - С.137-139
41. Абидов М.Т., Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Состояние апоптоза лимфоцитов периферической крови у больных хроническим вирусным гепатитом С// В сб. мат. международного евро-азиатского конгресса по инфекционным болезням. - Витебск. - 2008. - Том 2. - С.138-139
42. Понежева Ж.Б. Некоторые особенности иммунитета при хронических вирусных гепатитах // В сб. мат. 7 симпозиума по гепатологии. - Витебск. - 2008. - Том 2. – С.158-159

43. Нагоев Б.С., Абидов М.Т., Понежева Ж.Б. Исследование коэффициентов иммунной регуляции у больных ХГС// В сб. научных трудов 13 научно-практической конференции «Актуальные вопросы в клинике и эксперименте». - Махачкала. - 2008. - С.206-211
44. Понежева Ж.Б. Показатели цитокинов при ХГС // В сб. научных трудов 13 научно-практической конференции «Актуальные вопросы в клинике и эксперименте». – Махачкала. - 2008. - С.216-218
45. Понежева Ж.Б. Оценка иммунно-регуляторных коэффициентов в сыворотке крови при ХГС// В сб. трудов научно-практической конференции «Инфекционные болезни ЮФО». – Краснодар. - 2008. - С.51
46. Абидов М.Т., Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Апоптоз лимфоцитов периферической крови при ХВГ В,С,В+С//В сб. «Актуальные вопросы теоретической и клинической медицины». – Нальчик. - 2008. - С.13-15
47. Понежева Ж.Б. Значение ИФН-статуса для контроля эффективности терапии ХВГ// В сб. «Актуальные вопросы теоретической и клинической медицины». – Нальчик. - 2008. -С. 90-93
48. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Показатели ИФН- γ и ИЛ-4 при хронических вирусных гепатитах// Ж. Цитокины и воспаление. - Санкт-Петербург. - 2008. - Т. 7. - №3. – С.57-58
49. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Иммунно-регулятивные коэффициенты как предикторы эффективности терапии хронических вирусных гепатитов// В сб. «Достижения медицинской науки - практическому здравоохранению». – Нальчик. - 2008. - С. 80-82
50. Абидов М.Т., Понежева Ж.Б., Данилова И.Г. Влияние препарата тамерит на регенерацию печени после частичной гепатэктомии // В сб. «Достижения медицинской науки - практическому здравоохранению». - Нальчик. - 2008. - С.17-20
51. Понежева Ж.Б. Коэффициенты иммунной регуляции при ХГС // В сб. «Достижения медицинской науки - практическому здравоохранению». – Нальчик. - 2008. - С.94-98
52. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Оценка клинической эффективности иммуномодуляторов тамерит и глимурид в терапии ХГС // В сб. мат. научно-практической конференции «Проблемы семейного здоровья». – Владикавказ. - 2008. - С.48-50
53. Понежева Ж.Б. Исследования НК-Т-клеток при ХВГ// В сб. мат. Междунар. Конференции «Фундаментальные проблемы морф. в клинической меди». - 2009. - С.150-154
54. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Продукция ИФН- γ и ИЛ-4 при ХВГ // В сб. мат. Междунар. Конференции «Фундаментальные проблемы морф. в клинической медицине». - 2009. - С.154-156
55. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Состояние цитокиновой системы у больных ХГ В и С // В сб. мат. научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфекционной патологии». - Ростов. - 2009. - С.132-134
56. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Роль апоптоза при ХГС// В сбор. научных трудов 14 российской научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфекционных болезней в клинике, стандарты диагностики и лечения». – Махачкала. - 2009. - С.208-212
57. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Влияние тамерита на уровень апоптоза у больных ХГС// В сбор. научных трудов 14 российской научно-практической конференции «Актуальные вопросы инф. болезней в клинике, стандарты диагностики и лечения». – Махачкала. - 2009. - С.212-214.
58. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Апоптоз при хроническом вирусном гепатите С// В сб. «Актуальные вопросы теоретической и клинической медицины». – Нальчик. - 2010. – С. 126-130

59. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Роль апоптоза мононуклеаров периферической крови у больных ХГС // В сб. мат. международной научно- практической конференции. – Харьков. - 2010. - С.254-257
60. Понежева Ж.Б. Особенности иммунной регуляции при хроническом гепатите С // В сб. мат. международной научно- практической конференции. – Харьков. - 2010. - С.258-260
61. Абидов М.Т., Данилова И.Г., Понежева Ж.Б., Нагоев Б.С. Влияние препарата тамерит на репаративные и функциональные показатели печени после частичной гепатэктомии // «Актуальные проблемы биологической защиты войск и населения». Диагностика и лечение особо опасных инфекционных заболеваний. – Екатеринбург. - 2009. - С.191-192
62. Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б. Особенности апоптоза при ХГС // В сб. матер. научно-практической конференции «Инфекционные болезни ЮФО». – Сочи. - 2010. - С.137-139
63. Абидов М.Т., Понежева Ж.Б. Оценка влияния препарата тамерит на уровень апоптоза // В сб. матер. научно-практической конференции «Инфекционные болезни ЮФО». – Сочи. - 2010. - С.150-152
64. Обернихин С.С., Понежева Ж.Б., Калюжин О.В. Гепатопротективный эффект β-гептилглиозидаМДП и 3-аминофталгидрозида // «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии» Секция экспериментальная биология и клиническая медицина в третьем тысячелетии (доклад). В прил. сб. «труды 18 международной конференции и дискуссионного научного клуба» (тезис), - Украина, Ялта. - 2010. - Т.2. – С.27-29
65. Абидов М.Т., Нагоев Б.С., Понежева Ж.Б., Иванова М.Р. Клинические аспекты апоптоза при ХГС// Доклады АМАН. - Т. 12. - №2. – 2010. - С.149-156
66. Нагоев Б.С, Понежева Ж.Б. Клинико-иммунологические особенности ХГС в зависимости от генотипа// В сбор. научных трудов 15 российской научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфекционных болезней в клинике, стандарты диагностики и лечения». – Махачкала. - 2010. - С.126-130
67. Понежева Ж.Б. Оценка уровня CD 95+ в зависимости от генотипа при ХГС// В сбор. научных трудов 15 российской научно-практической конференции «Актуальные вопросы инф. болезней в клинике, стандарты диагностики и лечения». – Махачкала. - 2010. - С.130-132