

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК [616.36-002.2+616.36-004]:616.-085.281.8:602.9(043.3)

ЛУКАШИК
Светлана Петровна

**ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ
ВГС-ИНФЕКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С АЛЛЕЛЕМ UGT1A1*28,
КРИОГЛОБУЛИНЕМИЕЙ И ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

по специальности 14.01.09 – инфекционные болезни

Минск 2022

Научная работа выполнена в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Научный консультант: **Карпов Игорь Александрович**, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент Национальной академии наук Беларуси, заведующий кафедрой инфекционных болезней учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Еремин Владимир Федорович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией диагностики трансфузионно-трансмиссивных инфекций государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий»

Силивончик Наталья Николаевна, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры общей врачебной практики с курсом гериатрии государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Щерба Алексей Евгеньевич, доктор медицинских наук, доцент, заместитель директора по хирургической работе государственного учреждения «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии»

Оппонирующая организация: учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет»

Защита состоится 14 октября 2022 года в 12.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.04 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220083, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, e-mail: uchsovet@bsmu.by, тел. 8 (017) 302-16-21.

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

Автореферат разослан _____ сентября 2022 года.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций Д 03.18.04,
кандидат медицинских наук, доцент



А. П. Музыченко

ВВЕДЕНИЕ

Хроническая инфекция, вызванная вирусом гепатита С (ВГС-инфекция), признана глобальной медико-социальной проблемой [ВОЗ, 2010]. Повсеместное распространение, частота прогрессирования хронического гепатита С (ХГС) в ВГС-цирроз печени, разнообразие иммунных реакций, ведущих к формированию внепеченочных проявлений, активное вовлечение лиц репродуктивного и трудоспособного возраста определяют ее высокую медицинскую значимость [Цыркунов В.М. и соавт., 2012; Ключарева А.А. и соавт., 2016; Gower E. et al., 2014]. В мире насчитывается 58 млн лиц, инфицированных ВГС, и продолжают регистрироваться новые случаи заражения [ВОЗ, 2021]. Наиболее распространено заболевание в Восточном Средиземноморье и Европейском регионе [ВОЗ, 2018]. Частота внепеченочных проявлений при хронической ВГС-инфекции в странах Европы составляет от 40% до 74% [Cacoub P., 2014]. Социально-экономические последствия (преждевременная потеря трудоспособности, необходимость выплаты пенсии по инвалидности, преждевременная смерть) ВГС-инфекции по значимости могут превышать медицинские [Ющук Н.Д., 2013]. Так, по сравнению с общей популяцией, у пациентов с декомпенсированным циррозом риск смерти увеличивается в 10 раз [Fleming K.M., 2012]. Смертность от развития различных внепеченочных проявлений достигает от 20% до 80% [Retamozo S., 2013]. По прогнозам тяжелое бремя хронической ВГС-инфекции в ближайшие годы будет сохраняться [Samarasekera U., 2021].

Внедрение в клиническую практику препаратов прямого противовирусного действия позволило значительно снизить неблагоприятные исходы ВГС-инфекции [Adinolfi L., 2020]. Однако исследования, уточняющие эффективность и профиль безопасности препаратов у пациентов отдельных групп, немногочисленны и противоречивы. Так, несмотря на то, что противовирусное лечение стало более эффективным, пациенты с криоглобулинемией и васкулитом представляют одну из наиболее трудных для лечения категорий. По данным одних авторов эрадикация вируса приводит к устранению криоглобулинемии [Gragnani L. et al., 2015], по мнению других – не всегда достижение авиремии способствует ремиссии внепеченочных проявлений [Игнатова Т.М., 2012], и эффективность препаратов прямого действия не следует преувеличивать [Saadoun D., 2016]. Остается мало изученной хроническая ВГС-инфекция у пациентов с аллелем UGT1A1*28, определяющим синдром Жильбера. С одной стороны, актуальность мутации обусловлена широким распространением в европейской популяции [Torres A., 2017], в том числе Республике Беларусь [Синявская М.Г., 2018], и клиническими последствиями (чаще развиваются рак молочной железы,

желчекаменная болезнь) [Zhang Y., 2017; Lin Y-C., 2009]; с другой – отсутствием четкого представления о ее роли в сценарии хронических заболеваний печени, в частности, хронической ВГС-инфекции. Тот факт, что при синдроме Жильбера может изменяться метаболизм лекарственных препаратов (Мельникова Л.И., 2019), а процесс глюкуронирования осуществляется не только в печени, но и в других органах, а также доступность альтернативных путей метаболизма [Radu P., 2001], позволило некоторым авторам рассматривать синдром Жильбера как индикаторный фенотип риска нежелательных явлений [Deterding K., 2009; Ипатова М.Г., 2015]. Данные о последствиях приема противовирусных препаратов при синдроме Жильбера немногочисленны [de Souza M., 2017]. В исследованиях по лечению препаратами прямого действия, в которые случайным образом включались пациенты с синдромом Жильбера, продемонстрировано повышение билирубина [Deterding K., 2009]. Однако степень его повышения, возможность продолжения лечения, эффективность препаратов прямого противовирусного действия у пациентов с аллелем UGT1A1*28 ранее не изучались.

До настоящего времени остается окончательно нерешенным вопрос лечения пациентов с ВГС-циррозом печени. Эрадикация вируса не оказала должного влияния на регресс фиброза при циррозе печени [Facciorusso A., 2017], поэтому единственным эффективным методом лечения остается ортотопическая трансплантация печени, которая успешно применяется в мире [Готье С.В., 2008; Zarrinpar A., 2013], в том числе в Республике Беларусь [Руммо О.О., 2009; Щерба А.Е., 2009]. Однако, несмотря на успехи в трансплантологии, существует целый ряд нерешенных проблем, главная из которых – дефицит донорских органов [Готье С.В., 2008; Хубутя М.Ш., 2010]. Поэтому существенная потребность в разработке альтернативных подходов лечения цирроза печени сохраняется. Использование аутологичных мезенхимальных стволовых клеток может стать одним из таких подходов [Алейникова О.В., 2010; Цыркунов В.М., 2010; Suk K., 2016].

Выделенная проблемная ситуация отражает актуальность темы диссертации и обосновывает необходимость проведения дальнейших исследований.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами и темами

Работа выполнена в рамках государственной комплексной программы научных исследований на 2006-2010 гг. «Современные клеточные и молекулярно-генетические технологии в медицине; новые подходы к регуляции, коррекции (реабилитации) и профилактике патологических

состояний человека», наименование задания «Разработка и внедрение технологии трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для лечения хронического гепатита С и цирроза печени» (2009–2010 гг., государственная регистрация № 20092520 от 28.09.2009); государственной программы научных исследований «Научное обеспечение технологий и техника» на 2016–2020 гг. (раздел «Геномные биотехнологии») подпрограммы «Инновационные биотехнологии 2020», наименование задания: «Разработать методы дифференциальной диагностики и прогнозирования особенностей течения хронических заболеваний печени с использованием геномных технологий» (2016–2020 гг., государственная регистрация № 20164705 от 29.12.2016); плановых научно-исследовательских работ УО «Белорусский государственный медицинский университет» «Комплексное изучение этиопатогенетических и клинических аспектов в современной инфектологии» (2014–2018 гг., государственная регистрация № 20093140 от 01.01.2014 г.) и «Комплексное изучение этиопатогенетических, гистологических, иммунологических, молекулярно-генетических и клинических аспектов вирусных, бактериальных, протозойных инфекций и улучшение системы их диагностики, лечения и профилактики» (2019–2023 гг., государственная регистрация № 20190861 от 02.05.2019 г.).

Цель и задачи исследования

Цель исследования: определить особенности хронической ВГС-инфекции у пациентов с аллелем UGT1A1*28, криоглобулинемией, циррозом печени и оценить результаты их лечения лекарственными препаратами прямого противовирусного действия, рибавирином, а также интрапаренхимальным введением аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга.

Задачи исследования:

1. Провести молекулярно-генетическое тестирование пациентов с хронической ВГС-инфекцией с целью выявления у них аллеля UGT1A1*28 и установить у пациентов с аллелем UGT1A1*28 клинические особенности хронической ВГС-инфекции.
2. Оценить значение аллеля UGT1A1*28 при хронической ВГС-инфекции как фактора, ассоциированного с эффективностью и нежелательными явлениями лекарственных препаратов прямого противовирусного действия.
3. Оценить значение аллеля UGT1A1*28 при хронической ВГС-инфекции как фактора, ассоциированного с эффективностью и нежелательными явлениями рибавирина в противовирусных схемах.
4. Изучить частоту криоглобулинемии и других внепеченочных проявлений при хронической ВГС-инфекции в исследуемой группе пациентов, при наличии криоглобулинемии установить особенности хронической ВГС-инфекции и генотипы вируса.

5. Установить особенности хронической ВГС-инфекции в исследуемой группе пациентов с криоглобулинемическим васкулитом и оценить значение криоглобулинемического васкулита при хронической ВГС-инфекции как фактора, ассоциированного с эффективностью лекарственных препаратов прямого противовирусного действия на основании применения комплексного анализа ответов (вирусологического, иммунологического и клинического) на 12 неделе после окончания лечения.

6. Оценить результаты интрапаренхимального введения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга у пациентов с ВГС-циррозом печени класса тяжести А и В по Чайлду–Пью на основании комплексного анализа клинических, лабораторных и морфологических показателей.

Объект и предмет исследования

Объект исследования – пациенты с хронической ВГС-инфекцией, медицинская документация.

Предмет исследования – особенности хронической ВГС-инфекции у пациентов с наличием аллеля UGT1A1*28 и криоглобулинемии; противовирусная, клиническая и иммунологическая эффективность лекарственных препаратов прямого противовирусного действия; нежелательные явления лекарственных препаратов прямого противовирусного действия и рибавирина в комбинации с лекарственными препаратами прямого противовирусного действия; морфологические изменения печени и клинические данные у пациентов с циррозом печени, вызванным вирусом гепатита С, после интрапаренхимального введения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга.

Научная новизна

Впервые на большом клиническом материале проведена систематизация широкого спектра демографических, клинических, лабораторных, инструментальных, морфологических, молекулярно-биологических и молекулярно-генетических параметров хронической ВГС-инфекции у пациентов с аллелем UGT1A1*28, криоглобулинемией и криоглобулинемическим васкулитом.

Впервые в Республики Беларусь в группе пациентов с хронической ВГС-инфекцией установлена высокая частота аллеля UGT1A1*28 и определены особенности хронической ВГС-инфекции при его наличии. Доказано, что хроническая ВГС-инфекция у пациентов с аллелем UGT1A1*28 характеризуется высокой частотой (свыше 73%) диспепсического синдрома, повышенными значениями общего билирубина (74,8%) и не отличается от хронической ВГС-инфекции у пациентов без мутации значениями прямого билирубина, аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы

(АсАТ), альбумина, протромбинового индекса, международного нормализованного отношения (МНО), частотой астеновегетативного и артралгического синдромов.

Впервые проведены исследования в условиях реальной клинической практики и обобщен собственный опыт лечения пациентов с аллелем UGT1A1*28 и хронической ВГС-инфекцией лекарственными препаратами прямого противовирусного действия и рибавирином в комбинации с препаратами прямого противовирусного действия. Установлена частота вирусологического ответа у пациентов с аллелем UGT1A1*28.

Доказано, что наиболее частым нежелательным явлением во время лечения препаратами прямого противовирусного действия и рибавирином в противовирусных схемах является повышение общего билирубина. Впервые научно обосновано, что при лечении пациентов с хронической ВГС-инфекцией и аллелем UGT1A1*28 повышение общего билирубина до 2-й и 3-й степени по шкале СТСАЕ v5.0 не сопровождается одновременным повышением АлАТ, АсАТ, клиническими признаками печеночной недостаточности и не требует отмены лечения.

Впервые в отечественной клинической практике у пациентов с хронической ВГС-инфекцией установлена частота криоглобулинемии. Доказано, что хроническая ВГС-инфекция с наличием криоглобулинемии характеризуется чаще встречающимися пациентами с 3-м генотипом вируса и низкой вирусной нагрузкой независимо от генотипа вируса, пациентами с циррозом печени и пациентами с разнообразным спектром внепеченочных проявлений, основным из которых является криоглобулинемический васкулит.

Доказано, что криоглобулинемический васкулит ассоциирован с медианным возрастом пациентов 53 года и симптомокомплексом (сосудистая пурпура, общая слабость, артралгии, миалгии, поражение почек, полинейропатия, повышенный ревматоидный фактор), который характеризует высокую иммунологическую активность процесса.

Впервые в Республике Беларусь при оценке результатов противовирусного лечения применен комплексный подход и доказан более низкий полный ответ на лечение лекарственными препаратами прямого противовирусного действия пациентов с криоглобулинемическим васкулитом по сравнению с пациентами с криоглобулинемией без васкулита.

Установлено, что криоглобулинемический васкулит при лечении пациентов лекарственными препаратами прямого противовирусного действия на 12 неделе после его окончания ассоциирован с вирусологическим ответом у 97%, иммунологическим ответом – у 71% и клиническим ответом – у 58%, что в совокупности формирует более низкий общий полный ответ на лечение (53%) по сравнению с пациентами с криоглобулинемией без васкулита (88%).

Апробировано интрапаренхимальное введение аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для лечения пациентов с ВГС-циррозом печени класса тяжести А и В по Чайлду–Пью и обобщен опыт их применения: отмечено улучшение клинических и лабораторных показателей и не отмечено полного разрешения морфологических признаков цирроза печени по данным световой микроскопии и иммуногистохимического исследования, эрадикации вируса, декомпенсации цирроза печени и бактериальных осложнений.

Положения, выносимые на защиту

1. Частота аллеля UGT1A1*28 у пациентов с хронической ВГС-инфекцией в исследуемой группе является высокой. Хроническая ВГС-инфекция у пациентов с аллелем UGT1A1*28 отличается от хронической ВГС-инфекции у пациентов без мутации более частым диспепсическим синдромом и повышенными значениями общего билирубина.

2. У пациентов с аллелем UGT1A1*28 лечение хронической ВГС-инфекции лекарственными препаратами прямого противовирусного действия характеризуется высокой эффективностью. Эффективность лекарственных препаратов не связана с генотипами UGT1A1*28, наличием у пациентов хронического гепатита С или цирроза печени, длительностью противовирусного лечения и неудачей предшествующего лечения интерферонсодержащей схемой. Наиболее частым нежелательным явлением во время противовирусного лечения у пациентов с аллелем UGT1A1*28 является повышение общего билирубина, которое ассоциировано с генотипами UGT1A1*28, длительностью лечения и неудачей предшествующего лечения интерферонсодержащей схемой. Повышение билирубина не требует отмены противовирусных препаратов.

3. У всех пациентов с аллелем UGT1A1*28 лечение хронической ВГС-инфекции рибавирином в комбинации с лекарственными препаратами прямого противовирусного действия характеризуется достижением устойчивого вирусологического ответа на 12 неделе после его окончания. Наиболее частым нежелательным явлением во время лечения у пациентов с аллелем UGT1A1*28 является повышение общего билирубина, которое не требует отмены противовирусного лечения.

4. Частота криоглобулинемии при хронической ВГС-инфекции у пациентов исследуемой группы составляет 36%. Хроническая ВГС-инфекция с наличием криоглобулинемии характеризуется чаще встречающимися пациентами с 3-м генотипом вируса и низкой репликативной активностью вируса независимо от его генотипа, пациентами с циррозом печени, а также пациентами с разнообразным спектром внепеченочных проявлений, основным из которых является криоглобулинемический васкулит (27%).

5. Криоглобулинемический васкулит при хронической ВГС-инфекции наблюдается у пациентов более молодого возраста и характеризуется разнообразием спектра клинических проявлений (сосудистая пурпура, общая слабость, артралгии, миалгии, поражение почек, полинейропатия, положительный ревматоидный фактор), свидетельствующих об иммунологической активности заболевания. Наличие криоглобулинемического васкулита при лечении пациентов лекарственными препаратами прямого противовирусного действия на 12 неделе после его окончания ассоциировано с достижением вирусологического ответа у 97%, иммунологического ответа – у 71% и клинического ответа – у 58%, что в совокупности формирует более низкий общий полный ответ на лечение по сравнению с пациентами с криоглобулинемией без васкулита.

6. Через 6 месяцев после интрапаренхимального введения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга пациентам с ВГС-циррозом печени класса тяжести А и В по Чайлду–Пью не отмечается полного разрешения морфологических признаков цирроза по данным световой микроскопии и иммуногистохимического исследования, эрадикации вируса, декомпенсации цирроза печени и бактериальных осложнений, но наблюдается уменьшение баллов индекса MELD, снижение билирубина и увеличение уровня тромбоцитов.

Личный вклад соискателя ученой степени

Диссертационная работа является самостоятельным научным исследованием, выполненным автором. Тема диссертационного исследования, цель, задачи, положения, выносимые на защиту, методологические подходы, выводы сформулированы автором самостоятельно. Самостоятельно разработан дизайн, план и протокол исследования, создана база данных пациентов, проведены анализ, статистическая обработка полученных данных и их интерпретация (консультативная помощь при проведении статистических исследований осуществлялась ведущим научным сотрудником лаборатории биоинформатики государственного научного учреждения «Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси», доцентом, к.т.н. Красько О.В.). Автором спланирован и организован отбор пациентов с хронической ВГС-инфекцией для включения их в исследование, лично проводилась консультативная работа и наблюдение пациентов на базе Минского городского центра инфекционной гепатологии и отделения вирусассоциированных циррозов печени учреждения здравоохранения «Городская инфекционная клиническая больница» г. Минска, республиканского научно-практического центра «Детской онкологии, гематологии и иммунологии» (вклад – 80%), а также анализ всей амбулаторной и стационарной медицинской документации (вклад – 100%).

Общеклинические, иммунологические и молекулярно-биологические исследования выполнялись в лаборатории учреждения здравоохранения «Городская инфекционная клиническая больница» г. Минска. Результаты частоты криоглобулинемии при хронической ВГС-инфекции, особенности хронической ВГС-инфекции у пациентов с наличием криоглобулинемии и криоглобулинемического васкулита, а также результаты оценки значения криоглобулинемического васкулита при хронической ВГС-инфекции как фактора, ассоциированного с эффективностью лекарственных препаратов прямого противовирусного действия на основании применения комплексного анализа ответов на 12 неделе после окончания лечения изложены в статьях, материалах конференций, тезисах [11, 12, 19, 21–23, 38, 47–50], вклад соискателя – 85%.

Морфологические исследования печени выполнялись сотрудниками центральной научно-исследовательской лаборатории учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет» к.б.н. Кравчук Р.И., к.б.н. Андреевым В.П. и сотрудниками кафедры патологической анатомии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» к.м.н. Клецким С.К., к.м.н. Жуковой Т.В., к.м.н. Григорьевым Д.Г. Результаты оценки морфологических изменений печени методами световой и электронной микроскопии, иммуногистохимического исследования, результаты интрапаренхимального введения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга у пациентов с ВГС-циррозом печени класса тяжести А и В по Чайлду–Пью изложены в статьях, материалах конференций и съездов, тезисах [1–10, 13, 14, 20, 25–37, 39–42], вклад соискателя – 50–95%.

Исследование полиморфизма гена UGT1A1 выполнялось в лаборатории нехромосомной наследственности государственного научного учреждения «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси» (заведующий лабораторией – д.м.н., профессор, член-корреспондент Национальной академии наук Беларуси Давыденко О.Г.). Результаты частоты аллеля UGT1A1*28 у пациентов с хронической ВГС-инфекцией, особенности хронической ВГС-инфекции у пациентов с аллелем UGT1A1*28, а также значение аллеля UGT1A1*28 при хронической ВГС-инфекции как фактора, ассоциированного с эффективностью и нежелательными явлениями лекарственных препаратов прямого противовирусного действия, изложены в статьях, материалах конференций, тезисах [15–18, 24, 43–46], вклад соискателя – 85%.

При участии автора на основании результатов диссертационного исследования разработаны и утверждены в Министерстве здравоохранения Республики Беларусь 5 инструкций по применению (личный вклад – 50–90%) [51–55]. При участии автора разработаны заявки на изобретение (вклад – 50%)

[56, 57], разработан и написан клинический протокол «Диагностика и лечение пациентов (взрослое население) с хроническими вирусными гепатитами В и С» (вклад – 40%) [58].

В диссертационном исследовании не использован материал кандидатской диссертации.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Основные положения и результаты диссертации доложены и обсуждены на международных конгрессах, симпозиумах и зарубежных конференциях: международной научно-практической конференции «Современные проблемы инфекционной патологии человека» (Минск, 2008); международном симпозиуме «Актуальные вопросы гепатологии» (Гродно, 2009); 11-м Славяно-Балтийском научном форуме (Санкт-Петербург, 2009); I конгрессе Евразийского общества по инфекционным болезням (Санкт-Петербург, 2010); международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы детской трансплантологии» (Минск, 2010); международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы инфекционных заболеваний» (Ташкент, 2010); X международном симпозиуме «Актуальные вопросы гепатологии» (Гродно, 2013); X Российской научно-практической конференции с международным участием (Москва, 2013); международном семинаре «Актуальные проблемы хронического гепатита С» (Москва, 2013); XI международном симпозиуме «Актуальные вопросы гепатологии» (Гродно, 2015); III Евразийском конгрессе ревматологов (Минск, 2016); международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы парентеральных инфекций» (Харьков, 2018); на республиканских и областных конференциях с международным участием: республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» (Гродно, 2011); республиканской научно-практической конференции «Актуальные вопросы гепатологии» (Брест, 2011); республиканской научно-практической конференции «Современные проблемы инфекционной патологии человека» (Минск, 2012); республиканской научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфектологии» (Гродно, 2012); республиканской научно-практической конференции «Современные проблемы инфекционной патологии человека» (Минск, 2014); 6-м съезде инфекционистов (Витебск, 2014); республиканской научно-практической конференции «Новые концепции и методы в микробиологии, вирусологии и иммунологии» (Минск, 2017); областной научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфекционной патологии» (Гродно, 2017); республиканском научно-практическом семинаре «Баланс между эффективностью/безопасностью и приверженностью к лечению «старых и новых» лекарственных средств»

(Минск, 2017); республиканской научно-практической конференции (Гродно, 2018); республиканской научно-практической конференции «Ревматология в XXI веке: современные стратегии диагностики и лечения» (Минск, 2018); республиканской научно-практической конференции «Достижения гастроэнтерологии – в практику» (Минск, 2019); республиканском научно-практическом семинаре «Парентеральные вирусные инфекции: современные возможности диагностики и лечения» (Минск, 2019); научно-практической конференции «Современные аспекты здоровьесбережения» (Минск, 2019); научной сессии БГМУ (Минск, 2017; Минск, 2018; Минск, 2020; Минск, 2021); республиканской научно-практической конференции «Принципы лечения хронического гепатита С препаратами прямого действия» (Минск, 2021); *на республиканских, областных, городских конференциях и семинарах*: городской научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» (Гродно, 2010); городской научно-практической конференции «Руководства 2014 г. по терапии вирусных гепатитов» (Минск, 2014); областной конференции (Гродно, 2017); республиканском семинаре «Актуальные вопросы эпидемиологии, лечения, диагностики и профилактики ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов В и С» (Минск, 2017); областном семинаре «Актуальные вопросы гепатологии» (Гродно, 2018).

Результаты исследования использованы при разработке инструкции по применению и внедрены в лечебную практику учреждений здравоохранения «Городская клиническая инфекционная больница» г. Минска, «Брестская областная клиническая больница», «Могилевская инфекционная больница», «2-я городская клиническая больница» г. Минска, «3-я городская клиническая больница» г. Минска.

Опубликование результатов диссертации

По материалам диссертации опубликована 50 научных работ общим объемом 21,66 авторских листа, где изложены результаты проведенных исследований и отражены положения, выносимые на защиту. Из опубликованных работ: 26 статей в научных изданиях, отвечающих требованиям пункта 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь (18,9 авторского листа); 4 статьи в материалах научных съездов, конгрессов и конференций (1,46 авторского листа), 20 тезисов (1,3 авторского листа). Утверждены 5 инструкций по применению Министерства здравоохранения Республики Беларусь, получено 2 патента на изобретения Республики Беларусь, утвержден 1 клинический протокол.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 253 страницах компьютерного текста (отдельным томом представлены приложения), состоит из введения, общей характеристики работы, 7 глав (обзор литературы, материалы и методы, 5 глав

результатов собственных исследований), заключения, библиографического списка и 21 приложения. Объем содержательной части диссертации составил 175 страниц, включая 38 таблиц (объем – 21 страница) и 33 рисунка (объем – 22 страницы). Библиографический список включает 956 источников, из которых 79 русскоязычных и 849 англоязычных, а также 28 собственных публикаций соискателя.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и методы исследования

Основу методологии составили общеклинический метод, включающий клинико-anamnestические и объективные данные пациентов, результаты лабораторных исследований и специальные методы, реализация которых позволила ответить на поставленную цель и задачи исследования.

Всего под наблюдением находилось 954 пациента с хронической ВГС-инфекцией. Оценка частоты аллеля UGT1A1*28 у пациентов с хронической ВГС-инфекцией проводилась с включением 175 пациентов. В группу оценки особенностей хронической ВГС-инфекции у пациентов с аллелем UGT1A1*28, оценки значения аллеля UGT1A1*28 при хронической ВГС-инфекции как фактора, ассоциированного с эффективностью и нежелательными явлениями лекарственных препаратов прямого противовирусного действия, включено 143 пациента: 101 пациент – с аллелем UGT1A1*28, 42 пациента – с генотипом (ТА)6/(ТА)6. В группу оценки значения аллеля UGT1A1*28 при хронической ВГС-инфекции как фактора, ассоциированного с эффективностью и нежелательными явлениями рибавирина в комбинации с лекарственными препаратами прямого противовирусного действия, включено 32 пациента с хронической ВГС-инфекцией: 18 пациентов – с аллелем UGT1A1*28 и 14 пациентов – с генотипом (ТА)6/(ТА)6. В группу оценки частоты криоглобулинемии при хронической ВГС-инфекции, оценки особенностей хронической ВГС-инфекции у пациентов с криоглобулинемией, частоты генотипов вируса гепатита С и значения вирусной нагрузки включено 773 пациента: 491 пациент без криоглобулинемии; 282 пациента с криоглобулинемией. В группу оценки особенностей хронической ВГС-инфекции у пациентов с криоглобулинемическим васкулитом и значения криоглобулинемического васкулита как фактора, ассоциированного с эффективностью лекарственных препаратов прямого противовирусного действия, включен 151 пациент: 41 пациент с криоглобулинемическим васкулитом, 110 пациентов с криоглобулинемией без васкулита. В группу оценки интрапаренхимального введения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга включено 6 пациентов с ВГС-циррозом печени.

Для лечения применялись противовирусные схемы: софосбувир 400 мг/ледипасвир 90 мг, софосбувир 400 мг/велпатасвир 100 мг, софосбувир 400 мг в комбинации с даклатасвиром 60 мг, софосбувир 400 мг/ледипасвир 90 мг в комбинации с рибавирином, софосбувир 400 мг в комбинации с даклатасвиром 60 мг и рибавирином. Рибавирин назначался в суточной дозе 1000 мг пациентам с массой тела менее 75 кг или 1200 мг пациентам с массой тела более 75 кг. У всех пациентов с хронической ВГС-инфекцией оценивался вирусологический ответ на лечение. У пациентов с криоглобулинемией дополнительно оценивался иммунологический ответ, а у пациентов с криоглобулинемическим васкулитом – иммунологический и клинический ответы на лечение. Первичной конечной точкой противовирусной эффективности являлась доля пациентов, достигших устойчивого вирусологического ответа на 12 неделе после окончания лечения, – УВО12. Вторичной конечной точкой противовирусной эффективности являлась доля пациентов, достигших непосредственного вирусологического ответа на момент окончания лечения, – НВО. Иммунологическая эффективность лечения определялась по доле пациентов, достигших иммунологического ответа на 12 неделе после окончания лечения, – ИО12. Клиническая эффективность определялась по доле пациентов, достигших клинического ответа на 12 неделе после окончания лечения, – КО12. Анализ степени тяжести нежелательных явлений при лечении пациентов с хронической ВГС-инфекцией лекарственными препаратами прямого противовирусного действия проводился с использованием международной шкалы токсичности СТСАЕ v5.0 (англ. Common Toxicity Criteria for Adverse Events).

Биохимическое исследование крови выполнено с использованием реагентов «Biosystems» (Испания) на биохимическом анализаторе А-25 (Испания). Определение показателей общего анализа крови проводилось на гематологических анализаторах МЕК-6410К (РФ) и Nihon Konden (Япония). Для диагностики вирусных гепатитов методом иммуноферментного анализа (ИФА) использовались сертифицированные тест-системы: ИФА-ГЕПА-АТ-М, Республика Беларусь; ВектоНВsAg (подтверждающий), Российская Федерация; ВектоНВsAg-антитела, Российская Федерация; ВектоНВсAg-антитела, Российская Федерация; ВектоНВсAg-IgM, Российская Федерация; АО «Вектор Бест», Российская Федерация, г. Новосибирск, Бест анти-ВГС (комплект 3). Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) выполняли с использованием тест-систем АО «Вектор Бест», Российская Федерация, г. Новосибирск, РеалБест РНК ВГС; чувствительность 15 МЕ/мл. Генотип ВГС определялся методом ПЦР с генотип-специфическими праймерами (АО «Вектор Бест», Российская Федерация, г. Новосибирск, РеалБест РНК ВГС-1/ 2/ 3, чувствительность не менее 400 МЕ/мл, включает ВГС генотипов 1a, 1b, 2a, 2b, 2c, 2i, 3, 4, 5a, 6).

Протокол определения количества динуклеотидных повторов ТА в промоторе гена UGT1A1 разработан в государственном научном учреждении «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» и включал ПЦР со специфическими праймерами, последующее разделение полученного продукта в генетическом анализаторе 3500 (Applied Biosystems 3500) и анализ размеров полученных фрагментов в Gene Mapper. Биологическим материалом являлась ДНК, выделенная из буккального эпителия пациентов.

Для исследования эффективности и безопасности введения аутологичных мезенхимальных клеток костного мозга для лечения ВГС-цирроза печени у пациентов производился забор костного мозга. Для получения аутотрансплантата мезенхимальных стволовых клеток из костного мозга применяли технологию Исайкиной Я.И. и соавт. после модификации, заключающуюся в трехкратном отмывании клеток через 48 часов после удаления неадгезированной фракции с целью минимизации возможной контаминации вирусной инфекцией с клетками крови. Выполняли несколько пассажей, при которых мезенхимальные стволовые клетки наращивали *in vitro* в среде IMDM (Iscove's Modified Dulbecco's Medium) с 10% эмбриональной телячьей сывороткой (Sigma, США), 2 мМ L-глутамин и 10-4М 2-меркаптоэтанола до нужного объема в зависимости от массы тела пациента. Клетки, снятые с поверхности культуральных флаконов последнего пассажа, дважды отмывали в физиологическом растворе, переносили в шприц объемом 10 мл для дальнейшей инфузии пациенту. Принадлежность полученных данным методом клеток к мезенхимальным стволовым клеткам подтверждали наличием поверхностных маркеров CD105, CD90, CD44, CD140 (англ. cluster of differentiation). Костный мозг забирали в объеме 40–60 мл посредством пункции (под анестезией) за 35–45 дней до планируемой инфузии мезенхимальных стволовых клеток. Обязательным требованием являлось исследование мезенхимальных стволовых клеток из каждого пассажа на стерильность по всему спектру возможной бактериальной и вирусной контаминации. До трансплантации проводили иммунофенотипический анализ мезенхимальных стволовых клеток. Окраску клеток моноклональными антителами CD105, CD90, CD44, CD34, CD14 меченными фикоэритрином и CD45, меченными флуоресцеинизотиоционатом (Beckman Coulter), проводили по стандартной методике. Неспецифическое связывание моноклональных антител оценивали с помощью изотипического контроля. К образцу (100 000–200 000 клеток) добавляли 20 мкл специфических моноклональных антител и изотипического контроля и инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 25–30 минут. После инкубации с антителами клетки дважды отмывали в фосфатном буфере путем центрифугирования в течение 5 минут при 300 g. Анализ проводили на проточном цитофлуориметре FACSCan Becton Dickinson

(БиоЛайн, Финляндия) в программе CellQuestPro. Для каждого образца анализировали не менее 10 000 клеток. Дополнительно к исследованию связывания моноклональных антител регистрировали параметры прямого и бокового светорассеяния клеток. Для анализа жизнеспособности клетки окрашивали 0,4% раствором трипанового синего. При помощи светового микроскопа визуально подсчитывали в камере Горяева окрашенные (мертвые) и неокрашенные (живые) клетки в количестве не менее 100. Рассчитывали коэффициент жизнеспособности клеток (в процентах от общего числа подсчитанных клеток). Мезенхимальные клетки трансплантировали внутривенно: под контролем лапароскопа либо УЗИ путем последовательных пункций печени чрескожно в зону предварительно проведенной пункционной биопсии печени на площади до 5–7 см. Вводили 5 мл взвеси клеток из расчета 1×10^6 /кг массы тела – по 1 мл в 5 точек на глубину 2–2,5 см.

Слепая чрескожная пункционная биопсия печени проведена 6 пациентам (набор Set Menghini liver biopsy FteryLab S.p.A. фирмы «B. Braun», Германия). Исследование биоптата печени (размером 0,5×2 мм и 0,5×1,0 мм) проводилось с применением иммуногистохимического исследования, световой и электронной микроскопии. Из полученных блоков на ультрамикротоме MT-7000 ULTRA (USA) готовили полутонкие срезы, окрашивали метиленовым синим. Препараты изучали в световом микроскопе и выбирали участок для изучения ультраструктурных изменений. Изготавливали ультратонкие срезы, контрастировали 2% раствором уранилацетата на 50% метаноле и цитратом свинца по E.S. Reynolds. Электронно-микроскопическое исследование препаратов проводилось с использованием электронного микроскопа JEM-1011 (Япония) при увеличениях 10 000–40 000. Изображения фотографировали с помощью вмонтированной цифровой камеры Olympus MegaView III (Германия) при увеличении 10 000–40 000. Для морфометрического анализа митохондрий производили съемку при увеличении 20 000. Анализ осуществлялся с использованием компьютерной программы iTEM. Определяли количество профильных срезов митохондрий (Ni) на 12 и 18 единицах тестовой площади (1 снимок), равной 31,648 мкм², площадь структур, приходящуюся на эти профили (S), и производили расчет на площадь 100 мкм² цитоплазмы гепатоцитов. Рассчитывали среднюю площадь одной митохондрии (Si). С помощью иммуногистохимических методов оценивали активацию миофибробластов по экспрессии альфа-гладкомышечного актина α -SMA (англ. α -smooth muscle actin) и феномен капилляризации синусоидов по экспрессии CD34+. Для проведения иммуногистохимического исследования биоптаты фиксировали в 10% растворе формалина и заливали в парафин по стандартной методике. В последующем использовали коммерческие антитела к антигенам

CD34, α -SMA («Dako»). В качестве базового раствора применялся 0,05М Трис-буфер (pH 7,4) (Serva) с добавлением сапонина (0,01%). Срезы препаратов депарафинизировались в ксилоле, далее регидратировались в спиртах нисходящей концентрации с последующим промыванием в дистиллированной воде. Демаскировка антигенов проводилась в СВЧ-печи в течение 7 минут при 800 W, а затем 15 минут при 400 W. В качестве демаскировочных растворов использовались буферы с pH 6,0 и 9,0. Эндогенная пероксидаза блокировалась 3% H₂O₂ в течение 30 минут. Для блокирования неспецифического связывания антител на поверхность срезов препаратов в течение 30 минут наносился 1% раствор бычьего сывороточного альбумина. Инкубация с первичным антителом производилась в течение 30 минут. В качестве визуализирующей системы применялся EnVision («Dako»), а в качестве хромогена – диаминобензидин («Dako») в концентрации 1 мг/мл с добавлением H₂O₂. Препараты помещались в ксилол на 1 минуту, затем докрашивались гематоксилином Майера («Sigma»). Для морфометрического исследования микропрепараты фотографировали в 5–6 полях зрения (объектив 40), а также 10 полях зрения (объектив 100) с разрешением 1798 на 1438 пикселей при помощи микроскопа Leica с цифровой камерой Leica. Площадь исследуемых полей зрения составила 298,47*238,71=71247,77 μm^2 (увеличение $\times 40$) и 113,53*98,29 = 11158,86 μm^2 (увеличение $\times 100$) соответственно. Распространенность фиброзных изменений (CD34, α -SMA) оценивалась полуколичественно.

Криоглобулины определяли в образцах крови. На преаналитическом этапе пробирку с кровью помещали в термостат на 1 час, затем центрифугировали при 2000 об/мин 15 мин, затем отбирали сыворотку в объеме 2 мл в градуированные пробирки, которые помещали в холодильник на 5 суток при температуре 2–8 °С. Через 5 дней сыворотку центрифугировали в аналогичном режиме, определяли наличие криоглобулинов и процент криокрита.

Статистический анализ. На первоначальном этапе проводился анализ соответствия вида распределения количественных показателей закону нормального распределения, который выполнялся с использованием критерия Шапиро–Уилка. В зависимости от соответствия/несоответствия вида распределения анализируемых признаков закону нормального распределения в расчетах использованы параметрические и непараметрические методы описательной статистики. Количественные показатели исследования представлены медианой и квартилями в виде Me [Q25; Q75], в случае нормального распределения – средним и стандартным отклонением в виде $m \pm SD$. Сравнение количественных показателей проводилось с помощью критерия Манна–Уитни в случае двух групп и Крускала–Уоллиса в случае 3 и более групп для показателей, которые не подчинялись закону нормального

распределения. При наличии неоднородности по критерию Крускала–Уоллиса проводились парные сравнения между группами с поправкой на множественные сравнения. Парные сравнения в этом случае проводились по критерию Тьюки. Для нормально распределенных величин использовался критерий Стьюдента или Уэлча (для неравных дисперсий) в случае двух групп и однофакторный дисперсионный анализ в случае 3 и более групп. Сравнение двух повторяющихся измерений количественных показателей, не подчиняющихся закону нормального распределения, проводилось по критерию Уилкоксона для связанных выборок, общая неоднородность в случае трех и более групп оценивалась по критерию Фридмана. Парные сравнения в этом случае проводились по непараметрическому аналогу критерия Тьюки. Качественные показатели представлены частотами и процентами в группе. При исследовании таблиц сопряженности использовался критерий хи-квадрат, в случае нарушения предположений, лежащих в основе критерия хи-квадрат, использовался точный критерий Фишера. При выявлении неоднородности таблиц сопряженности проводился апостериорный анализ на основании стандартизированных отклонений от ожидаемых значений в соответствующих ячейках. Стандартизированное отклонение ± 2 и более считалось статистически значимым, и в случае положительного значения принималась гипотеза о превышении наблюдаемых частот над ожидаемыми в исследуемой ячейке. При необходимости проводили парные сравнения групп с поправкой Холма на множественные сравнения. Для упорядоченных категорий в таблицах сопряженности дополнительно использован критерий линейной ассоциации. При проверке статистических гипотез вероятность ошибки I рода (α) была принята равной 0,05. Нулевая гипотеза отвергалась в пользу альтернативной при $p < \alpha$. Все расчеты проводились в статистическом пакете R, версия 3.6.

Результаты исследования

Результаты оценки частоты аллеля UGT1A1*28 у пациентов с хронической ВГС-инфекцией

Из 175 пациентов с хронической ВГС-инфекцией европеоидной расы при молекулярно-генетическом тестировании у 56 (32%) пациентов установлен генотип (ТА)6/(ТА)6 UGT1A1 гена, у 119 (68%) пациентов выявлен аллель UGT1A1*28: у 39 (33%) пациентов – гомозиготный (ТА)7/(ТА)7, у 80 (67%) пациентов – гетерозиготный (ТА)6/(ТА)7 генотипы.

Результаты оценки особенностей хронической ВГС-инфекции у пациентов с аллелем UGT1A1*28

Исследование проведено с включением 143 пациентов с хронической ВГС-инфекцией: 42 (29,4%) пациента – с генотипом (ТА)6/(ТА)6, 101 (70,6%)

пациент – с аллелем UGT1A1*28: с гомозиготным генотипом (ТА)7/(ТА)7 – 34 (33,6%) пациента, с гетерозиготным генотипом (ТА)6/(ТА)7 – 67 (66,4%) пациентов. Анализ особенностей хронической ВГС-инфекции проводился в зависимости от наличия у пациентов генотипов аллеля UGT1A1*28. Группой сравнения служили пациенты с генотипом (ТА)6/(ТА)6. Пациенты в группах были сопоставимы по возрасту ($p>0,05$), полу ($p>0,05$), установленному диагнозу (ХГС или ВГС-цирроз печени) ($p>0,05$), индексу массы тела ($p>0,05$), уровню фиброза печени при ХГС ($p>0,05$), классу тяжести цирроза по Чайлду–Пью и шкале MELD (англ. Model for end-stage liver disease) ($p>0,05$).

Преобладающим генотипом вируса гепатита С у пациентов был 1-й, реже встречались 3-й и 2-й генотипы, что отражало частоту встречаемости генотипов в популяции пациентов с хронической ВГС-инфекцией в Республике Беларусь. Статистически значимых различий по генотипам вируса и значениям вирусной нагрузки у пациентов исследуемых групп не установлено ($p>0,05$).

Более половины пациентов в каждой группе имели признаки астеновегетативного синдрома. У пациентов с генотипом (ТА)7/(ТА)7 астеновегетативный синдром встречался в 76,5%, с генотипом (ТА)6/(ТА)7 – в 80,6%, с генотипом (ТА)6/(ТА)6 – в 76,2% ($p>0,05$). Реже у пациентов наблюдались проявления артралгического синдрома: с генотипом (ТА)7/(ТА)7 – в 17,6%, с генотипом (ТА)6/(ТА)7 – в 26,9%, с генотипом (ТА)6/(ТА)6 – в 26,2% ($p>0,05$).

Статистически значимых различий по гематологическим показателям (параметрам общего анализа крови) у пациентов различных групп не наблюдалось ($p>0,05$). Наличие аллеля UGT1A1*28 у пациентов с хронической ВГС-инфекцией в 74,8% сопровождалось гипербилирубинемией. Повышение общего билирубина статистически значимо чаще встречалось у пациентов с аллелем UGT1A1*28 по сравнению с пациентами, не имеющими мутации, у которых гипербилирубинемия наблюдались в 25,2% ($p<0,001$). При этом у пациентов с генотипом (ТА)7/(ТА)7 общий билирубин (23,1 (18,6; 34,5) мкмоль/л) был статистически значимо более высоким по сравнению с пациентами с генотипом (ТА)6/(ТА)7 (18,1 (13,2; 22,6) мкмоль/л) ($p<0,001$) и по сравнению с пациентами с генотипом (ТА)6/(ТА)6 (15,3 (12,0; 19,3) мкмоль/л) ($p<0,001$). Статистически значимых различий по значениям общего билирубина в группах пациентов с генотипами (ТА)6/(ТА)7 (18,1 (13,2; 22,6) мкмоль/л) и (ТА)6/(ТА)6 (15,3 (12,0; 19,3) мкмоль/л) не обнаружено ($p>0,05$). Значения непрямого билирубина были статистически значимо выше у пациентов с генотипом (ТА)7/(ТА)7 (17 (11,7; 22,4)) мкмоль/л по сравнению с пациентами с генотипом (ТА)6/(ТА)7 (10,7 (8,4; 14,1)) мкмоль/л ($p=0,021$). В то же время значения непрямого билирубина статистически значимо не различались у пациентов с генотипом (ТА)7/(ТА)7 (17 (11,7; 22,4) мкмоль/л)

по сравнению с пациентами с генотипом (ТА)6/(ТА)6 (10,7 (8,4; 17,2) мкмоль/л ($p>0,05$) и у пациентов с генотипом (ТА)6/(ТА)7 (10,7 (8,4; 14,1) мкмоль/л по сравнению с пациентами с генотипом (ТА)6/(ТА)6 (10,7 (8,4; 17,2) мкмоль/л ($p>0,05$)). Значения прямого билирубина, АлАТ, АсАТ, альбумина, протромбинового индекса и МНО у пациентов с генотипами (ТА)7/(ТА)7, (ТА)6/(ТА)7 и (ТА)6/(ТА)6 статистически значимо не различались ($p>0,05$).

Результаты оценки значения аллеля UGT1A1*28 при хронической ВГС-инфекции, как фактора, ассоциированного с эффективностью и нежелательными явлениями лекарственных препаратов прямого противовирусного действия

Исследование проведено с включением 143 пациентов с хронической ВГС-инфекцией: 42 (29,4%) пациента с генотипом (ТА)6/(ТА)6 и 101 (70,6%) пациент с аллелем UGT1A1*28: из них 34 (33,6%) – с генотипом (ТА)7/(ТА)7, 67 (66,4%) – с генотипом (ТА)6/(ТА)7. По исходным демографическим и клиническим характеристикам пациенты в группах не различались ($p>0,05$).

УВО12 у пациентов с хронической ВГС-инфекцией оценивался в зависимости от генотипа аллеля UGT1A1*28: (ТА)7/(ТА)7 или (ТА)6/(ТА)7. Группой сравнения служили пациенты с хронической ВГС-инфекцией и генотипом (ТА)6/(ТА)6. Кроме того, УВО12 оценивался в зависимости от установленного пациентам диагноза (ХГС или ВГС-цирроз печени), длительности лечения (12 недель или 24 недели), а также в зависимости от наличия указаний в анамнезе на неудачу лечения интерферонсодержащими схемами (отсутствие ответа или рецидив после проведенного лечения). Частота УВО12 у пациентов с хронической ВГС-инфекцией и генотипом (ТА)7/(ТА)7 составила 84,8%, с генотипом (ТА)6/(ТА)7 – 92,2%, с генотипом (ТА)6/(ТА)6 – 90,5%. Статистически значимых различий не установлено ($p>0,05$). Частота УВО12 у пациентов с ХГС составила 92,5%, у пациентов с ВГС-циррозом печени – 87,9% ($p>0,05$). У пациентов с ХГС, имеющих генотипы (ТА)7/(ТА)7 и (ТА)6/(ТА)7, УВО12 достигнут в 80% и в 95% соответственно; у пациентов с генотипом (ТА)6/(ТА)6 – в 95,2% ($p>0,05$). У пациентов с ВГС-циррозом печени, имеющих генотипы (ТА)7/(ТА)7 и (ТА)6/(ТА)7, УВО12 достигнут в 92,3% и в 87,5% соответственно; у пациентов с генотипом (ТА)6/(ТА)6 – в 85,7% ($p>0,05$). Частота УВО12 при длительности лечения 12 недель была 88,2%, при длительности лечения 24 недели – 96,6% ($p>0,05$). Пациенты, которые ранее лечились интерферонсодержащими схемами и имели неудачу лечения (рецидив или отсутствие вирусологического ответа), достигли УВО12 в 96,2%; пациенты, ранее не принимавшие противовирусные препараты, – в 88,5% ($p>0,05$).

Частота НВО у пациентов с хронической ВГС-инфекцией и генотипом (ТА)7/(ТА)7 составила 93,8%, с генотипом (ТА)6/(ТА)7 – 92,2%, с генотипом (ТА)6/(ТА)6 – 88,1%. Статистически значимых различий не выявлено ($p>0,05$).

НВО был отмечен у 92,6% пациентов с ХГС и 89,7% пациентов с ВГС-циррозом печени ($p>0,05$). У пациентов с ХГС, имеющих генотипы (ТА)7/(А)7 и (ТА)6/(ТА)7, частота НВО составила 100% и 95% соответственно; у пациентов с генотипом (ТА)6/(ТА)6 – 81% ($p>0,05$). У пациентов с ВГС-циррозом печени, имеющих генотипы (ТА)7/(ТА)7 и (ТА)6/(ТА)7, НВО наблюдался в 84,6% и 87,5% соответственно; у пациентов с генотипом (ТА)6/(ТА)6 – в 95,2% ($p>0,05$). Большинство включенных в исследование пациентов завершили лечение на 12 неделе и имели НВО в 91,8%. Остальные принимали препараты в течение 24 недель и достигли НВО в 89,7% ($p>0,05$). Пациенты, которые ранее лечились интерферонсодержащими схемами и имели неудачу лечения (рецидив или отсутствие вирусологического ответа), достигли НВО в 92,3%; пациенты, ранее не принимавшие противовирусные препараты, – в 91,2% ($p>0,05$).

Наиболее частым нежелательным явлением во время лечения лекарственными препаратами прямого противовирусного действия у пациентов с аллелем UGT1A1*28 и хронической ВГС-инфекцией было повышение общего билирубина, которое наблюдалось в 48,9%. Степени повышения билирубина в исследуемых группах были вариабельными. У пациентов с ХГС 1-я степень повышения билирубина наблюдалась в 33,3%, 2-я и 3-я степени – в 12,3%. У пациентов с ВГС-циррозом печени 1-я степень повышения билирубина отмечена в 40%, 2-я и 3-я степени – в 13,3%. Статистически значимых различий у пациентов с ХГС и ВГС-циррозом печени по повышению билирубина 2-й и 3-й степени не обнаружено ($p>0,05$). У пациентов с генотипом (ТА)6/(ТА)6 повышение билирубина 1-й степени наблюдалось в 28,6%, 2-й степени – в 2,4%. У пациентов с генотипом (ТА)6/(ТА)7 1-я степень повышения билирубина выявлена в 30,8%, 2-я и 3-я степени – в 13,8%. У пациентов с генотипом (ТА)7/(ТА)7 повышение билирубина 1-й степени наблюдалось в 55,9%, 2-й и 3-й степени – в 23,5%. Повышение общего билирубина 2-й и 3-й степени статистически значимо чаще наблюдалось у пациентов с генотипом (ТА)7/(ТА)7 по сравнению с генотипом (ТА)6/(ТА)6 ($p<0,001$) и по сравнению с генотипом (ТА)6/(ТА)7 ($p<0,001$). У пациентов, которые получали лечение препаратами прямого противовирусного действия в течение 12 недель, повышение билирубина 1-й степени наблюдалось в 31,5%; 2-й и 3-й степени – в 9,9%. При продолжительности противовирусного лечения в течение 24 недель повышение билирубина 1-й степени наблюдалось в 53,3%, 2-й и 3-й степени – в 23,3%. Повышение общего билирубина до 2-й и 3-й степени статистически значимо чаще наблюдалось у пациентов с хронической ВГС-инфекцией при длительности лечения 24 недели по сравнению с 12 неделями ($p=0,002$).

Пациенты, которые ранее лечились интерферонсодержащими схемами и имели неудачу лечения, повышение билирубина 1-й степени имели в 36%, 2-й и 3-й степени – в 28%. У пациентов, которые получали противовирусное

лечение впервые, повышение показателя 1-й степени установлено в 35,7%, 2-й и 3-й степени – в 9,6%. Повышение общего билирубина до 2-й и 3-й степени статистически значимо чаще наблюдалось у пациентов, которые ранее лечились интерферонсодержащими схемами и имели неудачу лечения, по сравнению с пациентами, которые получали лечение впервые ($p=0,033$).

При анализе линейно-линейной ассоциации между генотипом как порядковой переменной с уровнями «отсутствие мутации», «одна мутация», «две мутации» и порядковой переменной степени тяжести нежелательных явлений была выявлена статистически значимая взаимосвязь ($p<0,001$) с положительной статистикой критерия, что свидетельствует о статистической связи степени тяжести нежелательных явлений по уровню билирубина и мутацией в гене UGT1A1*28. В то же время с клинической точки зрения повышение билирубина до 2-й и 3-й степени не требовало отмены лечения. Непосредственный вирусологический ответ был достигнут у 88,6% пациентов при отсутствии повышения билирубина, у 91,8% – при повышении билирубина 1-й степени и у 100% – при повышении 2-й или 3-й степени ($p>0,05$).

АлАТ повышалась до 1-й степени у двух пациентов. АсАТ повышалась до 1-й степени у одного пациента. ЩФ была повышена у двадцати трех пациентов: 1-й степени – у 22 (19%) пациентов, 2-й степени – у одного (1%) пациента. Статистически значимых различий по частоте повышения ЩФ у пациентов с генотипами (ТА)7/(ТА)7, (ТА)6/(ТА)7 и (ТА)6/(ТА)6, у пациентов с ХГС и ВГС-циррозом печени, у пациентов с разной длительностью лечения (12 или 24 недели) и у пациентов с наличием или отсутствием в анамнезе предшествующего противовирусного лечения схемами с включением интерферона- $\alpha 2$ не наблюдалось ($p>0,05$).

Результаты оценки значения аллеля UGT1A1*28 при хронической ВГС-инфекции, как фактора, ассоциированного с эффективностью и нежелательными явлениями рибавирин в комбинации с лекарственными препаратами прямого противовирусного действия

В исследование включено 32 пациента европеоидной расы с хронической ВГС-инфекцией: 14 (43,8%) пациентов – с генотипом (ТА)6/(ТА)6 и 18 (56,2%) пациентов с аллелем UGT1A1*28: 5 (27,7%) пациентов – с генотипом (ТА)7/(ТА)7, 13 (72,3%) пациентов – с генотипом (ТА)6/(ТА)7. Пациенты в группах были сопоставимы по возрасту ($p>0,05$), полу ($p>0,05$), установленному диагнозу (ХГС или ВГС-цирроз печени) ($p>0,05$), уровню фиброза печени при ХГС ($p>0,05$), классу тяжести цирроза по Чайлду–Пью ($p>0,05$). Преобладающим генотипом вируса гепатита С у пациентов всех трех групп был 1-й, реже встречались 3-й и 2-й генотипы. Статистически значимых различий по частоте генотипов вируса и уровню вирусной нагрузки не установлено ($p>0,05$).

Все пациенты лечились рибавирином в комбинации с препаратами прямого противовирусного действия и достигли УВО12 в 100%.

Наиболее частым нежелательным явлением во время противовирусного лечения у пациентов с аллелем UGT1A1*28 было повышение общего билирубина: наблюдалось у 84,8%. При проведении анализа максимальной степени нежелательных явлений по уровню общего билирубина отмечено, что значения показателя были переменными и не превышали 2-й степени. При генотипе (ТА)7/(ТА)7 значения общего билирубина были повышенными у всех пациентов: до 1 степени – у 20%, до второй степени – у 80%. У пациентов с генотипом (ТА)6/(ТА)7 повышение билирубина до 1-й степени наблюдалось у 38,5%, до 2-й степени – у 46,2%. У пациентов с генотипом (ТА)6/(ТА)6 повышение билирубина соответствовало 1-й степени у 50%, 2-й степени – у 35,7%. У пациентов с ХГС до 1-й степени билирубин повышался в 46,7%, до 2-й степени – в 40%. У пациентов с ВГС-циррозом печени повышение билирубина 1-й степени наблюдалось в 35,3%, 2-й степени – в 52,9%. У пациентов, которые получали лечение рибавирином в комбинированных противовирусных схемах в течение 12 недель, повышение билирубина 1-й степени выявлялось в 42,9%, 2-й степени – в 42,9%. При 24-недельной продолжительности лечения повышение билирубина 1-й степени наблюдалось у 36,4%, 2-й степени – у 54,5%. У пациентов с неудачей предшествующего лечения интерферонсодержащей схемой, повышение общего билирубина 1-й степени было зарегистрировано в 50%, 2-й степени – в 35,7%. У пациентов, которые получали противовирусное лечение впервые, повышение показателя 1-й степени наблюдалось в 33,3%, повышение показателя 2-й степени – в 55,6%.

В результате проведенного анализа установлено, что повышение общего билирубина до 1-й и 2-й степени по шкале STCAE v5.0 статистически значимо не различается у пациентов с генотипами (ТА)6/(ТА)7, (ТА)7/(ТА)7 или (ТА)6/(ТА)6 ($p>0,05$), с клиническим диагнозом (ХГС или ВГС-цирроз печени) ($p>0,05$), с длительностью лечения (12 или 24 недели) ($p>0,05$) и наличием предшествующего противовирусного лечения схемами с включением интерферона- $\alpha 2$ ($p>0,05$).

АлАТ повышалась до 1-й степени у одного пациента. Повышение ЩФ до 1-й степени наблюдалось у трех пациентов.

Результаты оценки частоты криоглобулинемии при хронической ВГС-инфекции

Из 773 пациентов с хронической ВГС-инфекцией положительный тест на наличие в крови криоглобулинов был у 282 (36,5%), отрицательный – у 491 (63,5%) пациентов.

Результаты оценки особенностей хронической ВГС-инфекции у пациентов с криоглобулинемией, спектра и частоты внепеченочных проявлений, частоты генотипов вируса и значения вирусной нагрузки

Пациенты в группах с наличием и отсутствием криоглобулинемии были сопоставимы по полу ($p>0,05$) и индексу массы тела ($p>0,05$). Медианный возраст пациентов с криоглобулинемией составил 55 (44; 64) лет, без криоглобулинемии – 52 (41; 62) года ($p=0,021$).

В группе хронической ВГС-инфекции с криоглобулинемией по сравнению с группой без криоглобулинемии статистически значимо чаще встречались пациенты с ВГС-циррозом печени (55,0% и 40,7% соответственно, $p<0,001$), пациенты с синдромами спленомегалии (51,1% и 38,7% соответственно, $p=0,001$), гепатомегалии (51,1% и 17% соответственно, $p<0,001$), асцита (24,5% и 18,1% соответственно, $p<0,044$), пациенты с более низкими значениями тромбоцитов ($139 (94; 187) \times 10^9/\text{л}$ и $168 (121; 216) \times 10^9/\text{л}$ соответственно, $p<0,001$) и более высокими значениями СОЭ (12 (5; 20) мм/ч и 10 (5; 17) мм/ч, $p=0,001$), АсАТ (71,0 (40,5; 123,1) ЕД/л и 60,6 (35,7; 100,3) ЕД/л соответственно, $p=0,003$), ГГТП (58,3 (31,3; 114,0) ЕД/л и 48,4 (28,2; 92,5) ЕД/л соответственно, $p=0,008$), общего билирубина (17,6 (13,0; 25,4) мкмоль/л и 16,1 (11,5; 23,0) мкмоль/л соответственно, $p=0,030$) и ревматоидного фактора (61,4 (35,6; 106,4) МЕ/мл и 33,4 (23,9; 50,9) МЕ/мл соответственно, $p<0,001$).

Анализ жалоб пациентов при поступлении в стационар или в ходе амбулаторных консультаций позволил установить, что у пациентов с криоглобулинемией по сравнению с пациентами без криоглобулинемии статистически значимо чаще определялись следующие клинические синдромы: астеновегетативный синдром – в 89,7% и в 75,4% соответственно ($p<0,001$), диспепсический синдром – в 74,8% и в 54,8% соответственно ($p<0,001$) и артралгический синдром – в 47,5% и в 20,4% соответственно ($p<0,001$).

Наряду с обнаруженными изменениями в клинических и лабораторных показателях, которые характеризуют вовлечение в патологический процесс печени, обращало на себя внимание наличие у пациентов с ХГС и ВГС-циррозом печени различных болезней, которые в литературе классифицируются как внепеченочные проявления хронической ВГС-инфекции. Проведенный анализ показал, что при хронической ВГС-инфекции с различной частотой встречались следующие группы болезней: болезни опорно-двигательного аппарата и соединительной ткани, а также нарушения иммунной системы – в 13,1% ($n=101$), эндокринные заболевания: аутоиммунный тиреоидит – в 8,7% ($n=67$), болезни кожи и саркоидоз кожи – в 7,1% ($n=55$), опухоли кроветворной и лимфоидной тканей – в 2,5% ($n=19$). Наличие выявленных внепеченочных проявлений у пациентов с хронической ВГС-инфекцией характеризовало системность проявления заболевания. При

наличии криоглобулинемии доля пациентов с внепеченочными болезнями первой, второй и третьей групп была статистически значимо выше по сравнению с группой без криоглобулинемии: болезни опорно-двигательного аппарата и соединительной ткани, а также нарушения иммунной системы встречались у 28% (n=79) и 4,5% (n=22) соответственно ($p<0,001$); аутоиммунный тиреоидит – у 11,7% (n=33) и 6,9% (n=34) соответственно ($p=0,032$); болезни кожи и саркоидоз кожи – у 11,3% (n=32) и 4,7% (n=23) соответственно ($p<0,001$). При хронической ВГС-инфекции с криоглобулинемией по сравнению с хронической ВГС-инфекцией без криоглобулинемии статистически значимо чаще встречалось одна (35,5% и 15,1% соответственно, $p<0,001$), а также сочетание из двух (7,4% и 1,8% соответственно, $p<0,001$) или трех (1,1% и 0,2% соответственно, $p<0,001$) болезней. При хронической ВГС-инфекции и криоглобулинемии наиболее часто встречались пациенты с васкулитом – 27% (у 76 из 282 пациентов).

В результате изучения факторов вируса установлено, что при хронической ВГС-инфекции и криоглобулинемии по сравнению с группой без криоглобулинемии статистически значимо чаще встречались пациенты с 3-м генотипом вируса (25,2% и 18,1% соответственно, $p=0,025$) и более низкой (<800 000 МЕ/мл) вирусной нагрузкой (55,4% и 46,7% соответственно, $p=0,026$) независимо от генотипа.

Результаты оценки особенностей хронической ВГС-инфекции у пациентов с криоглобулинемическим васкулитом и значения криоглобулинемического васкулита как фактора, ассоциированного с эффективностью лекарственных препаратов прямого противовирусного действия

В исследование включен 151 пациент с хронической ВГС-инфекцией и криоглобулинемией. По признаку наличия или отсутствия васкулита пациенты разделились на 2 группы: с криоглобулинемическим васкулитом – 41 пациент, с криоглобулинемией без васкулита – 110 пациентов.

В группе ВГС-инфекции с криоглобулинемическим васкулитом медианный возраст пациентов составил 53 (43; 58) года; пациенты с криоглобулинемией без васкулита имели возраст 58 (49; 67) лет ($p=0,018$). Пациенты с криоглобулинемическим васкулитом статистически значимо не отличались от пациентов с криоглобулинемией без васкулита по полу ($p>0,05$), установленному диагнозу ХГС или ВГС-цирроз печени ($p>0,05$), по стадии фиброза печени при ХГС ($p>0,05$) и классу тяжести цирроза по Чайлду–Пью ($p>0,05$), показателям, характеризующим функцию печени (общему билирубину ($p>0,05$), АлАТ ($p>0,05$), АсАТ ($p>0,05$), ГГТП ($p>0,05$), ЩФ ($p>0,05$), общему белку ($p>0,05$) и альбумину ($p>0,05$)) и почек (мочевине ($p>0,05$), креатинину ($p>0,05$), скорости клубочковой фильтрации ($p>0,05$)),

показателям общего анализа крови ($p>0,05$). В то же время пациенты с криоглобулинемическим васкулитом по сравнению с пациентами с криоглобулинемией без васкулита чаще имели более высокие значения ревматоидного фактора: 80,2 (54,7; 133,4) МЕ/мл и 56,7 (36,2; 75,6) МЕ/мл соответственно ($p<0,001$), а также более высокие значения криокрита: 3 (1; 5)% и 2 (1; 5)% соответственно ($p=0,053$), что свидетельствовало о более высокой иммунологической активности процесса у пациентов с васкулитом.

Вирусная нагрузка у пациентов с криоглобулинемическим васкулитом составила 690 000 (150 000; 3 300 000) МЕ/мл, у пациентов без васкулита – 543 292 (172 500; 1 410 575) МЕ/мл. У пациентов как с криоглобулинемией и васкулитом, так и с криоглобулинемией без васкулита встречались три генотипа вируса: 1-й генотип – у 73,2% и 70,9% соответственно, 2-й генотип – у 4,9% и 6,4% соответственно, 3-й генотип – у 22% и 23,6% соответственно. Статистически значимых различий по значениям вирусной нагрузки и частоте генотипов вируса гепатита С не выявлено ($p>0,05$).

Основные клинические проявления у пациентов с криоглобулинемическим васкулитом включали пурпуру (100%), локализирующуюся на нижних конечностях, общую слабость (100%), артралгии (95%), миалгии (48,8%), поражение почек (44%), проявления дистальной полинейропатии (32%). Среди 18 пациентов с поражением почек у 12 ранее был установлен диагноз гломерулонефрита. У пациентов с криоглобулинемией дополнительно проводилась комплексная мультисистемная клиническая оценка васкулита с использованием Бирмингемской шкалы васкулитов – BVAS (от англ. Birmingham Vasculitis Activity Score), версия 3. Медианное значение баллов равнялось 12 (5,2; 19).

Анализ вирусологического ответа на 12 неделе после окончания лечения (УВО12) при хронической ВГС-инфекции у пациентов с КГЕ-В и КГЕ без васкулита показал высокий процент его достижения в обеих группах. Пациенты с криоглобулинемическим васкулитом имели УВО12 в 97%, пациенты с криоглобулинемией без васкулита – в 96%. Статистически значимых различий по показателю не наблюдалось ($p>0,05$).

У пациентов обеих групп к моменту окончания противовирусного лечения отмечалось статистически значимое улучшение лабораторных показателей, характеризующих функцию печени. У пациентов с криоглобулинемическим васкулитом отмечено снижение следующих показателей: общего билирубина с 16,2 (12,9; 21,2) мкмоль/л до 14,4 (11,2; 18,2) мкмоль/л ($p=0,014$), АлАТ – с 66,9 (29,8; 126,8) ЕД/л до 23,4 (18; 35) ЕД/л ($p<0,001$), АсАТ – с 60,7 (35,3; 114,3) ЕД/л до 31,3 (20; 43) ЕД/л ($p<0,001$), ГГТП – с 69,9 (30,1; 135,7) ЕД/л до 39,5 (20,7; 77,7) ЕД/л ($p<0,001$); и увеличение альбумина с 37,5 (34,8; 41,8) г/л до 43,5 (40,7; 46) г/л ($p=0,039$). У пациентов в группе

криоглобулинемии без васкулита наблюдалось снижение общего билирубина с 16,4 (11,9; 21,9) мкмоль/л до 13,2 (10,6; 19,6) мкмоль/л ($p=0,003$), АлАТ – с 66,5 (40,5; 107,6) ЕД/л до 21,0 (15,5; 27,1) ЕД/л ($p<0,001$), АсАТ – с 60,9 (40; 95,1) ЕД/л до 26,6 (21,6; 32,9) ЕД/л ($p<0,001$), ГГТП – с 45,1 (26,9; 77,2) ЕД/л до 26,1 (18,3; 44,1) ЕД/л ($p<0,001$); и увеличение альбумина с 38,9 (35; 42,8) г/л до 43,9 (39,8; 47,3) г/л ($p=0,021$).

Иммунологический ответ на 12 неделе после окончания лечения был отмечен у большинства пациентов обеих групп: криоглобулины не определялись у пациентов в группе криоглобулинемического васкулита в 71%, у пациентов в группе криоглобулинемии без васкулита – в 91% ($p=0,005$). В группе криоглобулинемического васкулита по сравнению с группой криоглобулинемии без васкулита была большая доля пациентов, которые только частично достигли иммунологического ответа (20% и 5% соответственно, $p=0,005$), и большая доля пациентов, которые не достигли иммунологического ответа (9% и 1% соответственно, $p=0,005$).

Клинический ответ на 12 неделе после окончания лечения оценивался только у пациентов с криоглобулинемическим васкулитом. После лечения уменьшилась доля пациентов, имеющих кожные проявления (со 100% до 42%, $p<0,001$), артралгии (с 95% до 42%, $p<0,001$), изменения со стороны почек (с 44% до 24%, $p=0,035$), проявления полинейропатии (с 32% до 18%, $p>0,05$). Общая слабость и миалгии исчезли у всех (100%) пациентов ($p<0,001$). При комплексной мультисистемной клинической оценке васкулита по шкале BVAS наблюдалось статистически значимое снижение показателя: с 12 (5,2; 19) до 8 (0; 12) ($p<0,001$) баллов. Доля пациентов с криоглобулинемическим васкулитом, достигших клинического ответа на 12 неделе после окончания лечения, составила 58%. Полного ответа (вирусологического, иммунологического, клинического) на 12 неделе после окончания лечения достигли 53% пациентов с криоглобулинемическим васкулитом и 88% пациентов с криоглобулинемией без васкулита.

Результаты оценки интрапаренхимального введения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга пациентам с ВГС-циррозом печени

В исследование включены пациенты, которые подписали информированное согласие, женского и мужского пола (3 женщины и 3 мужчин), в возрасте старше 18 и до 53 лет (средний возраст 44 ± 6 года) с ВГС-циррозом печени классов тяжести А (4 пациента) и В (2 пациента) по Чайлду–Пью, в крови у которых были выявлены анти-ВГС (суммарные антитела к вирусу гепатита С) и РНК вируса гепатита С. Медианное значение баллов по шкале Чайлда–Пью составило 6 (5; 10), по шкале MELD – 11,5 (9; 17). Пациенты ранее имели терапевтическую неудачу при лечении стандартным интерфероном (от момента

завершения лечения у них прошло не менее 1 года). Критериями невключения служили сопутствующая ВИЧ-инфекция, гепатит В, гепатоцеллюлярная карцинома, опухоли других локализаций, тяжелая сопутствующая патология, беременность и кормление грудью. В исследование не включались пациенты после трансплантации печени и почек. При включении в исследование все пациенты имели проявления астеновегетативного (общая слабость, быстрая утомляемость) и диспепсического синдромов (периодические боли или чувство тяжести в правом подреберье, тошнота, отсутствие аппетита), а также клинические признаки портальной гипертензии: спленомегалия (n=6), варикозное расширение вен пищевода 1-й степени (n=4) и 2-й степени (n=2). Кроме того, у 2 пациентов в анамнезе имелось указание на однократный эпизод асцита, который был сразу купирован, и на момент включения в исследования отсутствовал. У 3 пациентов наблюдалась желтушность кожных покровов и склер. У 1 пациентки были признаки криоглобулинемического васкулита. У всех пациентов отсутствовали клинические признаки печеночной энцефалопатии. Два пациента имели 3-й серотип вируса гепатита С, остальные – 1-й серотип. Медианное значение вирусной нагрузки до начала лечения составило 286 000 (42 000; 630 000) МЕ/мл. Все пациенты сохраняли комплаентность на протяжении всего периода после введения мезенхимальных стволовых клеток и через 6 мес. госпитализировались для оценки результатов лечения. Все пациенты сообщили о субъективном улучшении самочувствия к 6 мес. после введения мезенхимальных стволовых клеток: уменьшении, а затем исчезновении клинических признаков астеновегетативного и диспепсического синдромов. Ни у кого из них не отмечено повышение температуры тела, ухудшение жизненно важных функций, усиление или появление *de novo* признаков портальной гипертензии (энцефалопатии, гепаторенального синдрома, желудочно-кишечного кровотечения, бактериальных осложнений).

Статистический анализ проводился с применением описательных статистик количественных параметров, представленных медианой и размахом в виде Me (min; max) с учетом малого размера выборки. Сравнения исходных параметров и параметров после интрапаренхимального введения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток проводились по критерию Уилкоксона для парных измерений без учета поправки на множественные сравнения. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Расчёты проводились в статистическом пакете R (The R Project for Statistical Computing. R version 3.6.3, Austria).

В динамике наблюдения у пациентов было отмечено улучшение функции печени. Через 6 мес. после введения наблюдалось статистически значимое снижение баллов по шкале MELD с 11,5 (9; 17) до 8 (6; 10) ($p = 0,035$). Однако

статистически значимого снижения баллов при оценке по шкале Чайлда–Пью не отмечено: до введения мезенхимальных клеток – 6 (5; 10) баллов, через 6 мес. после введения – 5,5 (5; 8) баллов, ($p>0,05$); у 3 пациентов баллы снизились, у 3 пациентов – остались на прежнем уровне.

К 6 мес. после трансплантации отмечено статистически значимое снижение уровня билирубина с 36,4 (13,5; 74) мкмоль/л до 27 (8,9; 52) мкмоль/л ($p=0,03$), тренд к снижению уровня АлАТ с 110,5 (79; 212) Ед/л до 80,3 (54,8; 159,8) Ед/л ($p=0,062$): по сравнению с исходным снижение показателя наблюдалось у 4 пациентов, у 1 пациента значение АлАТ сохранилось на исходном уровне. К 3 мес. и 6 мес. отмечено статистически значимое повышение уровня тромбоцитов: с $83 (38; 140) \times 10^9/\text{л}$ до $124,6 (85,8; 213) \times 10^9/\text{л}$ к 3 мес. ($p=0,031$) и $119,5 (54,5; 205) \times 10^9/\text{л}$ ($p=0,031$) к 6 мес. Статистически значимых различий в значениях АсАТ, ЩФ, ГГТП, холестерина, альбумина, общего белка, альфа-фетопротейна, вирусной нагрузки до и после введения мезенхимальных стволовых клеток не наблюдалось ($p>0,05$). Изменений выраженности признаков портальной гипертензии (размеров селезенки по данным УЗИ и степени расширенных вен пищевода по данным эзофагогастродуоденоскопии) в динамике наблюдения не отмечено.

По данным анализа биоптатов печени методом световой микроскопии к 6 мес. после введения клеток у всех пациентов продолжали сохраняться признаки цирроза печени. По данным иммуногистохимического исследования не обнаружено статистически значимых различий в значениях α -SMA (до введения – 2,5 (2; 3) балла, через 6 месяцев после введения – 3 (1,5; 3) балла ($p>0,05$)) и CD34+ (до введения – 2 (1; 3) балла, через 6 мес. после введения – 2 (1; 2) балла ($p>0,05$)).

В то же время на ультраструктурном уровне в гепатоцитах выявлены признаки усиления процессов внутриклеточной регенерации: состояние ядерного аппарата (наличие в ядрах мелкозернистого и мелкогранулярного хроматина без формирования периферического конденсированного хроматина), наличие крупного ядрышка с центральной либо периферической локализацией в кариоплазме, с развитым гранулярным и фибриллярным компонентами, увеличение числа двуядерных гепатоцитов, состояние гранулярной эндоплазматической сети (гиперплазия цистерн, тесный топографический контакт с митохондриями), состояние митохондрий (гипертрофия, относительная ультраструктурная нормализация – умеренно электронноплотный матрикс, отчетливые кристы, диффузная локализация в цитоплазме), появление липидной инфильтрации, феномен «опустошенности» цитоплазмы. Были выявлены признаки реорганизации непаренхиматозного компартмента – активация процессов фибролиза: уменьшение признаков «капилляризации» синусоидов; уменьшение количества миофибробластов, истончение и фрагментация

фиброзных септ, разделяющих узлы регенерации. Выявленные признаки реорганизации паренхиматозного и непаренхиматозного компартментов демонстрируют перспективность метода интрапаренхимального введения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для лечения пациентов с ВГС-циррозом печени класса тяжести А и В по Чайлду–Пью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. В исследуемой группе пациентов с хронической ВГС-инфекцией отмечается высокая частота аллеля UGT1A1*28, достигающая 68% (выявлен у 119 из 175 пациентов): частота генотипа (ТА)7/(ТА)7 – 33% (у 39 из 119 пациентов), частота генотипа (ТА)6/(ТА)7 – 67% (у 80 из 119 пациентов). Наличие аллеля UGT1A1*28 при хронической ВГС-инфекции в 74,8% ассоциируется с гипербилирубинемией, которая у пациентов с мутацией встречается статистически значимо чаще, чем у пациентов без мутации (25,2%, $p < 0,001$). Более высокие значения общего билирубина наблюдаются у пациентов с генотипом (ТА)7/(ТА)7 (23,1 (18,6; 34,5) мкмоль/л) по сравнению с пациентами с генотипами (ТА)6/(ТА)6 (15,3 (12,0; 19,3) мкмоль/л) ($p < 0,001$) и (ТА)6/(ТА)7 (18,1 (13,2; 22,6) мкмоль/л) ($p < 0,001$); более высокие значения непрямого билирубина наблюдаются у пациентов с генотипом (ТА)7/(ТА)7 (17 (11,7; 22,4) мкмоль/л) по сравнению с генотипом (ТА)6/(ТА)7 (10,7 (8,4; 14,1) мкмоль/л) ($p = 0,021$). Хроническая ВГС-инфекция у пациентов с аллелем UGT1A1*28 характеризуется частотой диспепсического синдрома – более 73%: диспепсический синдром статистически значимо чаще встречается у пациентов с генотипом (ТА)7/(ТА)7 (88,2%) по сравнению с генотипом (ТА)6/(ТА)6 (42,9%, $p < 0,001$) и у пациентов с генотипом (ТА)6/(ТА)7 (73,1%) по сравнению с генотипом (ТА)6/(ТА)6 (42,9%, $p < 0,001$). Хроническая ВГС-инфекция у пациентов с аллелем UGT1A1*28 не отличается от хронической ВГС-инфекции у пациентов без мутации значениями прямого билирубина ($p > 0,05$), АлАТ ($p > 0,05$), АсАТ ($p > 0,05$), альбумина ($p > 0,05$), протромбинового индекса ($p > 0,05$), МНО ($p > 0,05$), частотой астеновегетативного и артралгического синдромов ($p > 0,05$) [16, 17, 24, 43, 45, 46].

2. У пациентов с аллелем UGT1A1*28 лечение хронической ВГС-инфекции лекарственными препаратами прямого противовирусного действия (софосбувир/ледипасвир, софосбувир/велпатасвир, софосбувир в комбинации с даклатасвиром) в исследуемой группе характеризуется частотой УВО12 при генотипе (ТА)7/(ТА)7 – 84,8%, при генотипе (ТА)6/(ТА)7 – 92,2%; у пациентов с генотипом (ТА)6/(ТА)6 – 90,5%. Частота УВО12

статистически значимо не различается у пациентов с генотипами (ТА)7/(ТА)7 (84,8%), (ТА)6/(ТА)7 (92,2%) по сравнению с генотипом (ТА)6/(ТА)6 (90,5%, $p>0,05$), у пациентов с диагнозами хронический гепатит С (92,5%) или ВГС-цирроз печени (87,9%, $p>0,05$), при длительности лечения 12 недель (88,2%) по сравнению с длительностью 24 недели (96,6%, $p>0,05$), у пациентов с неудачей предшествующего лечения интерферонсодержащей схемой (96,2%) по сравнению с пациентами, начавшими лечение впервые (88,5%, $p>0,05$). У пациентов с аллелем UGT1A1*28 противовирусное лечение характеризуется частотой НВО при генотипе (ТА)7/(ТА)7 – 93,8%, при генотипе (ТА)6/(ТА)7 – 92,2%; у пациентов с генотипом (ТА)6/(ТА)6 – 88,1%. Частота НВО статистически значимо не различается у пациентов с генотипами (ТА)7/(ТА)7 (93,8%), (ТА)6/(ТА)7 (92,2%) по сравнению с (ТА)6/(ТА)6 (88,1%, $p>0,05$), с диагнозами хронический гепатит С (92,6%) или ВГС-цирроз печени (89,7%, $p>0,05$), при длительности лечения 12 недель (91,8%) по сравнению с длительностью 24 недели (89,7%, $p>0,05$), у пациентов с неудачей предшествующего лечения интерферонсодержащей схемой (92,3%) по сравнению с пациентами, начавшими лечение впервые (91,2%, $p>0,05$). Наиболее частым нежелательным явлением у пациентов с аллелем UGT1A1*28 при лечении хронической ВГС-инфекции лекарственными препаратами прямого противовирусного действия является повышение общего билирубина (48,9%). Повышение общего билирубина до 2-й и 3-й степени по шкале СТСАЕ v5.0 статистически значимо чаще наблюдается у пациентов с генотипом (ТА)7/(ТА)7 (23,5%) по сравнению с пациентами с генотипами (ТА)6/(ТА)7 (13,8%, $p<0,001$) и (ТА)6/(ТА)6 (2,4%, $p<0,001$), при длительности лечения 24 недели (23,3%) по сравнению с длительностью 12 недель (9,9%) ($p=0,002$), у пациентов с неудачей предшествующего лечения интерферонсодержащей схемой (28%) по сравнению с пациентами, начавшими лечение впервые (9,6%, $p=0,033$). Повышение билирубина не требует отмены противовирусных препаратов [15–17, 44, 54].

3. У всех (100%) пациентов с аллелем UGT1A1*28 и с генотипом (ТА)6/(ТА)6 лечение хронической ВГС-инфекции рибавирином в комбинации с лекарственными препаратами прямого противовирусного действия (софосбувир/ледипасвир, софосбувир/велпатасвир, софосбувир в комбинации с даклтасвиром) характеризуется достижением УВО12. Наиболее частым нежелательным явлением у пациентов с аллелем UGT1A1*28 при лечении хронической ВГС-инфекции рибавирином в комбинации противовирусными препаратами является повышение общего билирубина (84,8%). Повышение общего билирубина до 2-й степени по шкале СТСАЕ v5.0 статистически значимо не различается у пациентов с генотипами (ТА)7/(ТА)7 (80%), (ТА)6/(ТА)7 (46,2%) и (ТА)6/(ТА)6 (35,7%, $p>0,05$), у пациентов с диагнозами

хронический гепатит С – 40% или цирроз печени – 52,9% ($p>0,05$), при длительности лечения 12 недель (42,9%) по сравнению с длительностью 24 недели (54,5%) ($p>0,05$) и у пациентов с неудачей предшествующего лечения интерферонсодержащей схемой (35,7%) по сравнению с пациентами, начавшими лечение впервые (55,6%) ($p>0,05$). Повышение билирубина не требует отмены рибавирина и лекарственных препаратов прямого противовирусного действия [18, 54].

4. В исследуемой группе пациентов с хронической ВГС-инфекцией частота криоглобулинемии составила 36,5% (криоглобулины выявлены у 282 из 773 пациентов). Хроническая ВГС-инфекция с наличием криоглобулинемии по сравнению с хронической ВГС-инфекцией без криоглобулинемии характеризуется статистически значимо чаще встречающимися пациентами с 3-м генотипом вируса (25,2% и 18,1% соответственно, $p=0,025$) и низкой репликативной активностью вируса независимо от его генотипа (55,4% и 46,7% соответственно, $p=0,026$), пациентами с циррозом печени (55,0% и 40,7% соответственно, $p<0,001$) и пациентами с внепеченочными проявлениями, среди которых следует выделить болезни опорно-двигательного аппарата и соединительной ткани, а также нарушения иммунной системы (28,0% и 4,5% соответственно, $p<0,001$), болезни кожи и саркоидоз кожи (11,3% и 4,7% соответственно, $p=0,001$), аутоиммунный тиреоидит (11,7% и 6,9% соответственно, $p=0,032$), как в виде одного заболевания (35,5% и 15,1% соответственно, $p<0,001$), так и в комбинации из двух (7,4% и 1,8% соответственно, $p<0,001$) или трех (1,1% и 0,2% соответственно, $p<0,001$) заболеваний, более высокими значениями ревматоидного фактора (61,4 (35,6; 106,4) МЕ/мл и 33,4 (23,9; 50,9) МЕ/мл соответственно, $p<0,001$), что позволяет сделать заключение о системном характере хронической ВГС-инфекции. При хронической ВГС-инфекции и криоглобулинемии наиболее часто встречаются пациенты с васкулитом – 27% (васкулит выявлен у 76 из 282 пациентов) [11, 21, 22, 38, 49, 50].

5. Хроническая ВГС-инфекция с наличием криоглобулинемического васкулита по сравнению с хронической ВГС-инфекцией с криоглобулинемией без васкулита в исследуемой группе характеризуется медианным возрастом пациентов 53 (43; 58) года по сравнению с возрастом 58 (49; 67) лет соответственно, $p=0,018$); статистически значимо более высокими значениями ревматоидного фактора (80,2 (54,7; 133,4) МЕ/мл по сравнению с 56,7 (36,2; 75,6) МЕ/мл соответственно, $p<0,001$), высокой частотой и разнообразием клинических проявлений: поражением кожи (100%), суставов (95%), мышц (48,8%), почек (44%), периферической нервной системы (32%), – признаками, которые в совокупности свидетельствуют о наличии у пациентов с васкулитом более высокой иммунологической активности заболевания. Пациенты

с криоглобулинемическим васкулитом и пациенты с криоглобулинемией без васкулита при применении лекарственных препаратов прямого противовирусного действия на 12 неделе после окончания лечения статистически значимо не различаются частотой вирусологического ответа (97% и 96% соответственно, $p > 0,05$), однако пациенты с криоглобулинемическим васкулитом чаще имеют более низкий иммунологический ответ (71%) по сравнению с пациентами с криоглобулинемией без васкулита (91%, $p = 0,005$) и достигают клинического ответа в 58%, что в совокупности формирует у них более низкие значения общего полного ответа на лечение: в группе криоглобулинемического васкулита – 53%, в группе криоглобулинемии без васкулита – 88% [12, 19, 23, 47, 48].

6. Через 6 месяцев после интрапаренхимального введения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга пациентам с ВГС-циррозом печени класса тяжести А и В по Чайлду–Пью [51] без одновременного применения противовирусных препаратов не отмечены полное разрешение морфологических признаков цирроза по данным световой микроскопии и иммуногистохимическим показателям (экспрессии CD34+, $p > 0,05$, и α -SMA, $p > 0,05$), снижение репликативной активности вируса ($p > 0,05$), цитолитической активности процесса (по показателям АлАТ ($p > 0,05$) и АсАТ ($p > 0,05$)), декомпенсация цирроза печени и бактериальных осложнений, однако отмечены снижение индекса MELD (с 11,5 (9; 17) до 8 (6; 10) баллов, $p = 0,035$), снижение общего билирубина (с 36,4 (13,5; 74) до 27 (8,9; 52) мкмоль/л, $p = 0,03$) и увеличение количества тромбоцитов (с $83 (38; 140) \times 10^9/\text{л}$ до $119,5 (54,5; 205) \times 10^9/\text{л}$, $p = 0,031$) [1–10, 13, 14, 20, 25–37, 39–42].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. При хронической ВГС-инфекции на фоне лечения пациентов препаратами прямого противовирусного действия и рибавирином в комбинации с противовирусными препаратами может наблюдаться повышение общего билирубина. Для формализации решения о продолжении или отмене лечения следует провести молекулярно-генетическое тестирование пациентов на возможное наличие у них аллеля UGT1A1*28, оценить уровень АлАТ и клинические признаки печеночной недостаточности согласно рекомендациям, изложенным в инструкции по применению «Метод прогнозирования вероятности успеха лечения пациентов, страдающих синдромом Жильбера и хроническим гепатитом С, лекарственными средствами прямого противовирусного действия». Использование данной инструкции совместно с клиническим протоколом «Диагностика и лечение пациентов (взрослое население) с хроническими вирусными гепатитами В и С» и инструкцией по

применению «Алгоритм лечения вирусного гепатита С лекарственными средствами прямого действия» позволит достичь устойчивого вирусологического ответа у пациентов с аллелем UGT1A1*28 при хронической ВГС-инфекции [53, 54, 58].

2. Хроническая ВГС-инфекция характеризуется постепенным формированием фиброза печени, может протекать как латентно, так и в виде тяжелых манифестных синдромов или самостоятельных внепеченочных заболеваний, что представляет значительные трудности в установлении диагноза и приводит к негативным последствиям заболевания. Использование инструкции по применению «Алгоритм диспансерного наблюдения при вирусных гепатитах» и инструкции по применению «Метод определения вероятности портальной гипертензии у пациентов с хроническим гепатитом С и (или) циррозом печени» позволяют оптимизировать работу с пациентами на амбулаторном и стационарном этапах, индивидуализировать подходы к диагностике и диспансерному наблюдению [52, 55].

3. Лекарственные препараты прямого действия используются для лечения ВГС-инфекции и имеют высокую противовирусную эффективность. Применение клинического протокола «Диагностика и лечение пациентов (взрослое население) с хроническими вирусными гепатитами В и С», предложенных способов рецидива или стойкой ремиссии хронического гепатита С и лечения хронического гепатита С позволят оптимизировать работу с пациентами на амбулаторном и стационарном этапах и будут способствовать элиминации ВГС-инфекции в Республике Беларусь [56, 57, 58].

4. Использование инструкции по применению «Метод трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для лечения хронического гепатита С и цирроза печени» позволит улучшить функциональное состояние печени и исходы у пациентов с хронической ВГС-инфекцией [51].

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**Статьи в научных журналах**

1. Патоиммуноморфогенез первично-хронического гепатита С / В.М. Цыркунов, **С.П. Лукашик**, В.П. Андреев, Р.И. Кравчук, Н.И. Прокопчик // Инфекционные болезни. – 2006. – Т. 4, № 2. – С. 10-16.
2. Апоптоз – ведущий механизм повреждения печени при хроническом гепатите С / В.М. Цыркунов, **С.П. Лукашик**, В.П. Андреев, Р.И. Кравчук, Н.И. Прокопчик // Здоровоохранение. – 2007. – № 4. – С. 22-27.
3. Электронная микроскопия как метод контроля эффективности терапии больных хроническим гепатитом С / В.М. Цыркунов, **С.П. Лукашик**, Р.И. Кравчук, В.М. Шейбак, А.С. Егоров // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2007. – № 1. – С. 216-218.
4. Механизмы липидной инфильтрации гепатоцитов при хронической HCV-инфекции с позиции патоморфогенеза / **С.П. Лукашик**, В.М. Цыркунов, Р.И. Кравчук, А.С. Литвинов // Инфекционные болезни. – 2008. – Т. 6, № 1. – С. 8-12.
5. **Лукашик, С.П.** Современные возможности и перспективы изучения фиброза печени у больных хроническим гепатитом С / С.П. Лукашик, В.М. Цыркунов, Р.И. Кравчук // Здоровоохранение. – 2009. – № 11. – С. 58-62.
6. Патогенетическая роль звездчатых клеток Ито и клеточных коопераций в формировании фиброза при хроническом гепатите С / **С.П. Лукашик**, В.М. Цыркунов, В.П. Андреев, Р.И. Кравчук, В.А. Абакарова // Инфекционные болезни. – 2010. – Т. 8, № 2. – С. 7-12.
7. Трансплантация аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга пациенту с хроническим гепатитом С на стадии цирроза печени / О.В. Алейникова, **С.П. Лукашик**, В.М. Цыркунов, Я.И. Исайкина, Р.И. Кравчук // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2010. – № 4. – С. 5-13.
8. Дифференцировка мезенхимальных стволовых клеток костного мозга в гепатоцитоподобные клетки *in vitro* / Я.И. Исайкина, Е.Г. Лях, А.М. Кустанович, **С.П. Лукашик**, О.В. Алейникова // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2011. – № 1. – С. 10-15.
9. Мезенхимальные стволовые клетки как перспективный метод терапии фиброза/цирроза печени / **С.П. Лукашик**, О.В. Алейникова, В.М. Цыркунов, Я.И. Исайкина, О.Н. Романова, А.Т. Шиманский, Р.И. Кравчук // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2013. – № 12. – С. 3-7.
10. Mesenchymal Bone Marrow-derived Stem Cells Transplantation in Patients with HCV Related Liver Cirrhosis / **S.P. Lukashyk**, V.M. Tsyrukunov, Ya.I. Isaykina, O.N. Romanova, A.T. Shymanskiy, O.V. Aleynikova, R.I. Kravchuk // J. Clin. Transl. Hepatol. – 2014. – Т. 2, № 4. – С. 217-221.

11. **Лукашик, С.П.** Хроническая HCV-инфекция и криоглобулинемия: механизмы формирования, клинические проявления, возможности медикаментозной коррекции / С.П. Лукашик, И.А. Карпов, Е.Н. Яговдик-Тележная // Клиническая инфектология и паразитология. – 2014. – № 4 (11). – С. 75-84.

12. **Лукашик, С.П.** Возможности медикаментозной коррекции внепеченочных проявлений хронической HCV-инфекции / **С.П. Лукашик**, И.А. Карпов // Рецепт. – 2015. – №5. – С. 38-46.

13. Мониторинг морфологических эффектов аутологичных мезенхимальных стволовых клеток, трансплантированных в печень при вирусном циррозе (клиническое наблюдение) / **С.П. Лукашик**, О.В. Алейникова, В.М. Цыркунов, Я.И. Исайкина, Р.И. Кравчук // Архивъ внутренней медицины. – 2018. – Т. 8, № 2. – С. 150-160.

14. Эффекты аутологичных мезенхимальных стволовых клеток, трансплантированных в печень при вирусном циррозе / **С.П. Лукашик**, О.В. Алейникова, В.М. Цыркунов, О.Н. Романова, Я.И. Исайкина, Р.И. Кравчук // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2018. – № 2. – С. 61-67.

15. Повышение билирубина у пациента с циррозом печени, вызванным вирусом гепатита С, при лечении противовирусными препаратами: синдром или приговор? / **С.П. Лукашик**, И.А. Карпов, Н.Г. Даниленко, М.Г. Синявская, И.В. Жуковская // Клиническая инфектология и паразитология. – 2018. – Т. 7, № 2. – С. 256-266.

16. Оценка эффективности и безопасности препаратов прямого противовирусного действия у пациентов с хронической инфекцией, вызванной вирусом гепатита С, и полиморфизмом UGT1A1*28 / **С.П. Лукашик**, И.А. Карпов, М.Г. Синявская, Н.Г. Даниленко, Л.А. Анисько, О.Г. Давыденко, О.В. Красько // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2020. – Т. 22, № 1. – С. 71-80.

17. Оценка безопасности лечения лекарственными средствами прямого противовирусного действия пациентов с хронической инфекцией, вызванной вирусом гепатита С, и полиморфизмом UGT1A1*28 / **С.П. Лукашик**, И.А. Карпов, М.Г. Синявская, Н.Г. Даниленко, Л.А. Анисько, О.Г. Давыденко, О.В. Красько // Клиническая инфектология и паразитология. – 2020. – Т. 9, № 2. – С. 210-225.

18. Оценка эффективности и безопасности лечения пациентов с хроническим гепатитом С и циррозом печени, и полиморфизмом UGT1A1*28 схемами с включением лекарственных средств прямого противовирусного действия и рибавирина / **С.П. Лукашик**, И.А. Карпов, М.Г. Синявская, Н.Г. Даниленко, Л.А. Анисько, О.Г. Давыденко, О.В. Красько // Рецепт. – 2020. – Т. 23, № 2-3. – С. 299-313.

19. Субпопуляционный состав Т-клеток памяти у пациентов с хронической инфекцией, вызванной вирусом гепатита С / **С.П. Лукашик**, Д.Б. Нижегородова, М.Ю. Адамович, У.С. Ивуть, Г.И. Иванчик, Т.В. Игнатович, И.А. Карпов, М.М. Зафранская // *Здравоохранение*. – 2020. – № 3. – С. 5-9.

20. Оценка трансплантации мезенхимальных стволовых клеток из костного мозга у пациентов с циррозом печени, вызванным вирусом гепатита с (пилотное исследование) / **С.П. Лукашик**, О.В. Алейникова, В.М. Цыркунов, И.А. Карпов, Я.И. Исайкина, О.В. Красько // *Архивъ внутренней медицины*. – 2021. – Т. 11, № 2. – С. 132-145.

21. **Лукашик, С.П.** Полиморфизм проявлений смешанной криоглобулинемии при хронической инфекции, вызванной вирусом гепатита С / **С.П. Лукашик**, И.А. Карпов, О.В. Красько // *Проблемы здоровья и экологии*. – 2021. – Т. 18, № 1. – С. 160-169.

22. **Лукашик, С.П.** Инфекция, вызванная вирусом гепатита С, с наличием криоглобулинемии: особенности и проявления / **С.П. Лукашик**, И.А. Карпов, О.В. Красько // *Доктор.Ру*. – 2021. – Т. 20, № 4. – С. 23-29.

23. **Лукашик, С.П.** Безопасность и исходы лечения препаратами прямого противовирусного действия пациентов с хронической инфекцией, вызванной вирусом гепатита С, криоглобулинемией и васкулитом / **С.П. Лукашик**, И.А. Карпов, О.В. Красько // *Клиническая инфектология и паразитология: международный научно-практический журнал*. – 2021. – Т. 10, № 2. – С. 219-235.

24. Особенности хронической инфекции, вызванной вирусом гепатита С, у пациентов с аллелем UGT1A1*28 / **С.П. Лукашик**, И.А. Карпов, М.В. Синявская, Н.Г. Даниленко, О.Г. Давыденко, О.В. Красько // *Клиническая инфектология и паразитология: международный научно-практический журнал*. – 2022. – Т. 11, № 1. – С. 52-59.

Статьи в научных сборниках и материалах конференций, тезисы докладов

25. **Лукашик, С.П.** Особенности липидной инфильтрации гепатоцитов при хронической HCV-инфекции / **С.П. Лукашик**, В.М. Цыркунов, А.С. Литвинов // *Вирусные гепатиты: эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика : материалы VII Рос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, 29-31 мая 2007 г. – Москва, 2007. – С. 243-244.*

26. **Лукашик, С.П.** Электронная микроскопия как метод контроля эффективности терапии больных хроническим гепатитом С / **С.П. Лукашик**, В.М. Цыркунов, Р.И. Кравчук // *Вирусные гепатиты: эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика: материалы VII Рос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, 29-31 мая 2007 г. – Москва, 2007. – С. 213-214.*

27. **Цыркунов, В.М.** Прогноз эффективности интерферонотерапии, длительного ответа и возможности развития рецидива хронического гепатита С по данным электронной микроскопии / В.М. Цыркунов, С.П. Лукашик // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2008. – № 2-3. – С. 125.

28. Патогенетическая роль популяции звездчатых клеток печени и клеточных коопераций в формировании фиброза при хроническом гепатите С / **С.П. Лукашик, В.М. Цыркунов, В.П. Андреев, Ю.В. Кравчук** // Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. – Минск, 2008. – Вып. 1. – С. 104-107.

29. Цыркунов, В.М. Количественные показатели виремии, жировой инфильтрации и цитотоксических лимфоцитов у больных хроническим гепатитом С: материалы 10-го юбил. Славян.-Балт. науч. форума «Санкт-Петербург – Гастро – 2008» / В.М. Цыркунов, **С.П. Лукашик** // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2008. – № 2-3. – С. 125.

30. **Лукашик, С.П.** Патоморфологические аспекты формирования фиброза печени при HCV-инфекции и других поражениях печени: современные представления / С.П. Лукашик, В.М. Цыркунов // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2009. – № 1. – С. 8-13.

31. **Лукашик, С.П.** Патоморфологические аспекты формирования фиброза печени и возможности антифиброзной терапии: современные представления / С.П. Лукашик, В.М. Цыркунов // Медицинская панорама. – 2009. – № 6. – С. 69-72.

32. Характеристика популяции звездчатых клеток Ито при хроническом гепатите С в зависимости от стадии хронизации / В.М. Цыркунов, **С.П. Лукашик, В.П. Андреев, Р.И. Кравчук** // Материалы 11-го Международного Славяно-Балтийского научного форума «Санкт-Петербург – Гастро – 2009», Санкт-Петербург, 20-22 мая 2009 г. – Санкт-Петербург, 2009. – С. 49.

33. Патогенетическая роль клеточных коопераций в формировании фиброза при хроническом гепатите С / В.М. Цыркунов, **С.П. Лукашик, В.П. Андреев, Р.И. Кравчук** // Материалы 11-го Международного Славяно-Балтийского научного форума «Санкт-Петербург – Гастро – 2009», Санкт-Петербург, 20-22 мая 2009 г. – Санкт-Петербург, 2009. – С. 48.

34. **Лукашик, С.П.** Патоморфология клеточных взаимодействий, участвующих в формировании фиброза печени у больных хроническим гепатитом С / С.П. Лукашик, В.М. Цыркунов // Актуальные вопросы гепатологии. Экспериментальная гепатология. Терапевтическая гепатология. Хирургическая гепатология: материалы 8-го Междунар. симп. гепатологов Беларуси, Могилев, 1-2 окт. 2009 г. – Минск: Тесей, 2009. – С. 71-73.

35. **Лукашик, С.П.** Мониторинг трансплантации аутогенных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга у больных вирусным циррозом печени HCV-этиологии / С.П. Лукашик, В.М. Цыркунов, О.В. Алейникова // Актуальные проблемы медицины: материалы ежегод. итоговой науч. конф. – Гродно: ГрГМУ, 2010. – С. 301-303.

36. Autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with liver cirrhosis. A pilot study / **S.P. Lukashik**, Y.I. Isaikina, A.T. Shimanskiy, O.N. Romanova, V.M. Cirkunov, O.V. Aleinikova // «5th Raisa Gorbacheva Memorial Meeting on Hematopoietic Stem Cell Transplantation». Cellular Therapy and Transplantation (CTT). Saint Petersburg, Russia. – 18-20 September, 2011. – P. 64-65.

37. Трансплантация аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для лечения фиброза и/или цирроза печени HCV-этиологии / В.М. Цыркунов, О.В. Алейникова, **С.П. Лукашик**, Я.И. Исайкина, Р.И. Кравчук // Россия-Беларусь-Сколково: единое экономическое пространство: тез. междунар. науч. конф., 19 сент. 2012. – Минск, 2012. – С. 5-6.

38. **Лукашик, С.П.** Клинико-эпидемиологическая характеристика цирроза печени смешанной этиологии / С.П. Лукашик, Е.Н. Яговдик, И.А. Карпов // Актуальные вопросы гепатологии: материалы 10-го междунар. симп. гепатологов Беларуси, Гродно, 26-27 сент. 2013 г. – Гродно: ГрГМУ, 2013. – С. 87-89.

39. Результаты мониторинга после трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга у пациента с вирусным / О.В. Алейникова, В.М. Цыркунов, **С.П. Лукашик**, Я.И. Исайкина, О.Н. Романова, Р.И. Кравчук // Актуальные вопросы гепатологии: материалы 10-го междунар. симп. гепатологов Беларуси, Гродно, 26-27 сент. 2013 г. – Гродно: ГрГМУ, 2013. – С. 4-6.

40. Стволовые клетки как метод терапии хронической печеночной недостаточности и цирроза печени / **С.П. Лукашик**, О.В. Алейникова, В.М. Цыркунов, Я.И. Исайкина, О.Н. Романова, А.Т. Шиманский, Р.И. Кравчук, С.К. Клецкий // Клиническая инфектология и паразитология. [Приложение к журналу]. Научные материалы, посвященные 100-летию Минской городской клинической инфекционной больницы. – Минск, 2013. – С. 61-68.

41. Морфологические изменения печени больных вирусассоциированным циррозом печени HCV-этиологии после трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга / **С.П. Лукашик**, В.М. Цыркунов, Я.И. Исайкина, О.Н. Романова, А.Т. Шиманский, О.В. Алейникова, Р.И. Кравчук // Материалы VI ежегодн. Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – Москва, 2014. – С. 180-181.

42. Перспективы лечения цирроза печени мезенхимальными стволовыми клетками костного мозга. Первый опыт / **С.П. Лукашик**, В.М. Цыркунов, Я.И. Исайкина, О.Н. Романова, А.Т. Шиманский, О.В. Алейникова, Р.И. Кравчук // В мире вирусных гепатитов. – 2014. – № 1. – С. 20-29.

43. Mutations in genes causing monogenic hepatic diseases in patients with chronic virus hepatitis C / N. Danilenko, M. Siniauskaya, **S. Lukashyk**, I. Karпов, O. Davydenko // Monogenic hepatic diseases in patients with chronic virus hepatitis C: VII Baltic Genetics Congress. – Rīga, Latvia, 2018. – P. 199-200.

44. Эффективность применения препаратов прямого противовирусного действия у пациентов с хронической инфекцией, вызванной вирусом гепатита С, при наличии у них мутантного аллеля UGT1A1 / **С.П. Лукашик**, И.А. Карпов, М.Г. Синявская, И.В. Жуковская // Молекулярная диагностика 2018: сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф.; Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Российская Федерация), М-во здравоохран. Респ. Беларусь; под. ред. В.И. Покровского. – Минск, 2018. – С. 527.

45. Диагностика мутаций, вызывающих наследственные заболевания печени, у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С / М.Г. Синявская, **С.П. Лукашик**, И.А. Карпов, О.Г. Давыденко, Н.Г. Даниленко // Молекулярная диагностика 2018: сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф.; Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Российская Федерация), М-во здравоохран. Респ. Беларусь; под. ред. В.И. Покровского. – Минск, 2018. – С. 218.

46. Частота мутации UGT1A1*28, ассоциированной с синдромом Жильбера в Беларуси / М.Г. Синявская, К.Я. Владыко, Д.С. Нестерович, А.В. Гончар, **С.П. Лукашик**, И.А. Карпов, Н.Г. Даниленко, О.Г. Давыденко // Молекулярная диагностика 2018: сб. науч. тр. междунар. науч.-практ. конф.; Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Российская Федерация), М-во здравоохран. Респ. Беларусь; под. ред. В.И. Покровского. – Минск, 2018. – С. 218.

47. Характеристика субпопуляционного состава Т-клеток памяти у пациентов с хронической инфекцией, вызванной вирусом гепатита С, протекающей с криоглобулинемией и васкулитом / **С.П. Лукашик**, Д.Б. Нижегородова, Г.И. Иванчик, Т.В. Игнатович, И.А. Карпов, М.М. Зафранская // Вирусные гепатиты – достижения и новые перспективы: материалы XII Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – Москва, 2019. – С. 53-54.

48. Анализ Т-клеток памяти у пациентов с хроническим гепатитом С и криоглобулинемией в зависимости от стадии фиброза печени / **С.П. Лукашик**, Д.Б. Нижегородова, Г.И. Иванчик, Т.В. Игнатович,

И.А. Карпов, М.М. Зафранская // Вирусные гепатиты – достижения и новые перспективы: материалы XII Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – Москва, 2019. – С. 52-53.

49. BELARUS State-funded hepatitis C treatment and local production of DAAs in Belarus / I. Karpov, V. Grankov, O. Skripko, **S. Lukashyk**, D. Danilau, D. Litvinchuk // Compendium of good practices in the health sector response to viral hepatitis in the WHO European Region. – 2020. – P. 11-13.

50. Соколов-Воропаев, А.А. Лимфопролиферативные нарушения как внепечёночные проявления хронического гепатита С / А.А. Соколов-Воропаев, **С.П. Лукашик** // Вестник гематологии. – 2020. – Т. 16, № 3. – С. 56.

Инструкции по применению

51. Метод трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для лечения хронического гепатита С и цирроза печени: инструкция по применению № 200-1210, утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 01.06.2011 г. / О.В. Алейникова, В.М. Цыркунов, **С.П. Лукашик**, О.Н. Романова, Я.И. Исайкина, А.Т. Шиманский, Т.Ф. Млявая. – Гродно, 2011. – 11 с.

52. Алгоритм диспансерного наблюдения при вирусных гепатитах: инструкция по применению № 226-1212, утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 20.12.2012 г. / **С.П. Лукашик**, Е.Н. Яговдик-Тележная, Д.Е. Данилов, А.А. Ключарева, Н.М. Шавлов, М.Г. Козаченко, И.А. Грибок. – Минск, 2012. – 10 с.

53. Алгоритм лечения вирусного гепатита С лекарственными средствами прямого действия: инструкция по применению № 036-0517, утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 01.05.2017 г. / Д.Е. Данилов, **С.П. Лукашик**, И.А. Карпов, Д.В. Литвинчук. – Минск, 2017. – 18 с.

54. Метод прогнозирования вероятности успеха лечения пациентов, страдающих синдромом Жильбера и хроническим гепатитом С, лекарственными средствами прямого противовирусного действия: инструкция по применению № 253-1218, утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 28.12.2018г. / **С.П. Лукашик**, И.А. Карпов, М.Г. Синявская, Н.Г. Даниленко, О.Г. Давыденко. – Минск, 2018. – 4 с.

55. Метод определения вероятности портальной гипертензии у пациентов с хроническим гепатитом С и (или) циррозом печени: инструкция по применению № 101-0719, утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 06.09.2019 г. / Д.В. Литвинчук, Д.Е. Данилов, И.А. Карпов, **С.П. Лукашик**. – Минск, 2019. – 6 с.

Патенты

56. Способ прогноза рецидива или стойкой ремиссии хронического гепатита С после интерферонотерапии: пат. 11036 Респ. Беларусь: МПК (2006) G 01 N 33/48 / **С.П. Лукашик**, В.М. Цыркунов, В.П. Андреев, Н.И. Прокопчик. Дата публ. 30.08. 08.

57. Способ лечения хронического гепатита С: пат. № 12511 Республики Беларусь, А 61К 31/56, А 61К 38/21 / В.М. Цыркунов, **С.П. Лукашик**. Дата публ. 27.07.2009.

Клинические протоколы

58. Диагностика и лечение пациентов (взрослое население) с хроническими вирусными гепатитами В и С: клин. протокол, утв. Постановлением М-ва здравоохранения Респ. Беларусь № 19 от 19.03.19 / И.А. Карпов, В.М. Семенов, В.М. Цыркунов, А.А. Ключарева, Е.Л. Красавцев, Д.Е. Данилов, **С.П. Лукашик**, Д.В. Литвинчук, Н.С. Ивкова, М.Г. Козаченко.

РЭЗІЮМЭ

Лукашык Святлана Пятроўна

Асаблівасці праяўлення і лячэння хранічнай ВГС-інфекцыі ў пацыентаў з алелем UGT1A1*28, крыяглабулінеміяй і цырозам печані

Ключавыя словы: хранічны гепатыт С, цыроз печані, UGT1A1*28, крыяглабулінемія, васкуліт, процівіруснае лячэнне, увядзенне аўталагічных мезенхімальных ствалавых клетак касцявога мозга.

Мэта даследавання: вызначыць асаблівасці хранічнай ВГС-інфекцыі ў пацыентаў з алелем UGT1A1*28, крыяглабулінеміяй, цырозам печані і ацаніць вынікі іх лячэння лекавымі прэпаратамі прамога процівіруснага дзеяння, рыбавірынам, а таксама інтрапарэнхімальным увядзеннем аўталагічных мезенхімальных ствалавых клетак касцявога мозга.

Метады даследавання: клінічныя, марфалагічныя, малекулярна-біялагічныя, малекулярна-генетычныя, статыстычныя.

Атрыманыя вынікі і іх навізна. Устаноўлена частата алеля UGT1A1*28 і крыяглабулінеміі ў пацыентаў з хранічнай ВГС-інфекцыяй. Паказаны асаблівасці хранічнай ВГС-інфекцыі ў пацыентаў з наяўнасцю UGT1A1*28, крыяглабулінеміяй і крыяглабулінемічным васкулітам. Вызначана эфектыўнасць лекавых прэпаратаў прамога процівіруснага дзеяння ў пацыентаў розных груп: з наяўнасцю UGT1A1*28, крыяглабулінеміяй, крыяглабулінемічным васкулітам. Праз шэсць месяцаў пасля інтрапарэнхімальнага ўвядзення аўталагічных мезенхімальных ствалавых клетак касцявога мозга пацыентам з ВГС-цырозам печані класа цяжкасці А і В па Чайлду–П’ю не адзначаны поўнае вырашэнне марфалагічных прыкмет цырозу, зніжэнне рэплікатыўнай актыўнасці, цыталітычнай актыўнасці працэса, дэкампенсацыя цырозу і бактэрыяльных ускладненняў, аднак адзначаны зніжэнне індэкса MELD, агульнага білірубіну і павелічэнне колькасці трамбацытаў.

Рэкамендацыі па выкарыстанні. Метад увядзення аўталагічных мезенхімальных ствалавых клетак для лячэння хранічнага гепатыту С і цырозу печані, алгарытмы дыспансэрнага назірання і лячэння лекавымі прэпаратамі прамога процівіруснага дзеяння хранічнай ВГС-інфекцыі, метады прагназавання поспеху лячэння пацыентаў з хранічным гепатытам С і сіндромам Жыльбера і верагоднасці развіцця партальнай гіпертэнзіі рэкамендавана выкарыстоўваць у профільных аддзяленнях устаноў аховы здароўя ў пацыентаў з хранічнай ВГС-інфекцыяй.

Галіна прымянення: інфекцыйныя хваробы, гастрэнтэралогія, рэўматалогія, генетыка, транспланталогія, фармакалогія.

РЕЗЮМЕ

Лукашик Светлана Петровна

Особенности проявления и лечения хронической ВГС-инфекции у пациентов с аллелем UGT1A1*28, криоглобулинемией и циррозом печени

Ключевые слова: хронический гепатит С, цирроз печени, UGT1A1*28, криоглобулинемия, васкулит, противовирусное лечение, введение аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга.

Цель исследования: определить особенности хронической ВГС-инфекции у пациентов с аллелем UGT1A1*28, криоглобулинемией, циррозом печени и оценить результаты их лечения лекарственными препаратами прямого противовирусного действия, рибавирином, а также интрапаренхимальным введением аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга.

Методы исследования: клинические, морфологические, молекулярно-биологические, молекулярно-генетические, статистические.

Полученные результаты и их новизна. Установлена частота аллеля UGT1A1*28 и криоглобулинемии у пациентов с хронической ВГС-инфекцией. Показаны особенности хронической ВГС-инфекции у пациентов с наличием аллеля UGT1A1*28, криоглобулинемией и криоглобулинемическим васкулитом. Установлена эффективность лекарственных препаратов прямого противовирусного действия у пациентов разных групп: с наличием UGT1A1*28, криоглобулинемии, криоглобулинемического васкулита. Через шесть месяцев после интрапаренхимального введения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга пациентам с ВГС-циррозом печени класса тяжести А и В по Чайлду–Пью не отмечены полное разрешение морфологических признаков цирроза, снижение репликативной активности вируса, цитолитической активности процесса, декомпенсация цирроза и бактериальных осложнений, однако отмечены снижение индекса MELD, общего билирубина и увеличение количества тромбоцитов.

Рекомендации по применению. Метод введения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга для лечения хронического гепатита С и цирроза печени, алгоритмы диспансерного наблюдения и лечения лекарственными препаратами прямого противовирусного действия хронической ВГС-инфекции, методы прогнозирования успеха лечения пациентов с хроническим гепатитом С и синдромом Жильбера и вероятности развития портальной гипертензии рекомендовано использовать в профильных отделениях учреждений здравоохранения у пациентов с хронической ВГС-инфекцией.

Область применения: инфекционные болезни, гастроэнтерология, ревматология, генетика, трансплантология, фармакология.

SUMMARY

Lukashyk Sviatlana

Features of the manifestation and treatment of chronic HCV-infection in patients with the UGT1A1*28 allele, cryoglobulinemia and liver cirrhosis

Key words: chronic hepatitis C, liver cirrhosis, UGT1A1*28, cryoglobulinemia, antiviral treatment, vasculitis, administration of autologous mesenchymal stem cells.

Aim of the study: to determine the characteristics of chronic HCV-infection in patients with the UGT1A1*28 allele, cryoglobulinemia, liver cirrhosis, and evaluate the results of their treatment with direct antiviral drugs, ribavirin, and intraparenchymal administration of autologous bone marrow mesenchymal stem cells.

Research methods: clinical, morphological, molecular biological, molecular genetic, statistical.

Results and their novelty. The frequency of occurrence of the UGT1A1*28 allele and cryoglobulinemia in patients with chronic HCV-infection was established. The features of chronic HCV-infection in patients with the presence of the UGT1A1*28 allele, cryoglobulinemia, and cryoglobulinemic vasculitis are shown. The effectiveness of drugs with direct antiviral action in different groups of patients has been established: with the presence of UGT1A1*28, cryoglobulinemia, cryoglobulinemic vasculitis. Six months after intraparenchymal administration of autologous bone marrow mesenchymal stem cells to patients with HCV-cirrhosis of the liver of severity class A and B according to Child–Pugh, complete resolution of the morphological signs of cirrhosis, a decrease in the replicative activity of the virus, a decrease in the cytolytic activity of the process, decompensation of cirrhosis and bacterial complications was not observed, however a decrease in the MELD index, total bilirubin and an increase in the number of platelets.

Recommendations. Method of administration autologous bone marrow mesenchymal stem cells for the treatment of chronic hepatitis C and cirrhosis, algorithms for dispensary observation and treatment with direct antiviral drugs for chronic HCV-infection, methods for predicting the success of treatment of patients with chronic hepatitis C and Gilbert's syndrome and the likelihood of developing portal hypertension are recommended use in specialized departments of healthcare institutions in patients with chronic HCV infection.

Application area: infectious diseases, gastroenterology, rheumatology, genetics, transplantology, pharmacology.

Подписано в печать 08.09.22. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Херох office».
Ризография. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 2,56. Уч.-изд. л. 2,76. Тираж 60 экз. Заказ 288.

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.