

С. В. ГУБКИН
В. Н. ЯБЛОНСКИЙ

The background of the cover features a complex, fractal-like pattern. It consists of several large, irregular, rounded shapes that resemble cells or organic structures. These shapes are filled with intricate, swirling patterns of color, primarily in shades of blue, green, and yellow, with some orange and red accents. The overall effect is reminiscent of a microscopic view of tissue or a complex biological process, possibly related to the book's subject matter of liver pathology.

**НСV-ИНФЕКЦИЯ
И ПАТОЛОГИЯ ПЕЧЕНИ
ПРИ РЕВМАТИЧЕСКИХ
ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

С.В. ГУБКИН
В.Н. ЯБЛОНСКИЙ

**НСУ-ИНФЕКЦИЯ
И ПАТОЛОГИЯ ПЕЧЕНИ
ПРИ РЕВМАТИЧЕСКИХ
ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

Минск
«Тэхналопя»
2007

Губкин, С.В. HCV-инфекция и патология печени при ревматических заболеваниях / С.В.Губкин, В.Н.Яблонский. - Минск: Тэхналопя, 2007. - 170 с. - ISBN 978-985-458-161-3.

Монография содержит основные сведения по изучению поражения печени у пациентов, имеющих перекрестную патологию - системные заболевания соединительной ткани в сочетании с хроническим вирусным гепатитом С. Представленные материалы отражают результаты собственных исследований диагностических возможностей инвазивных и неинвазивных методов изучения патологии печени у больных ревматоидным артритом, системной красной волчанкой, системным склерозом, первичным синдромом Шегрена и реактивными артритами.

Монография предназначена для ревматологов, терапевтов, клинических ординаторов и студентов медицинских вузов.

Табл.: 13. Ил.: 25. Библиогр.: 282 назв.

Рекомендовано научно-методическим советом БГМУ
(протокол № 7 от 28.03.2007)
и методической комиссией по терапевтическим дисциплинам
(протокол № 86/6 от 28.03.2007).

Рецензенты:
заведующий кафедрой валеологии
и физиологии БГТУ профессор *Ю.М.Досин*,
профессор кафедры пропедевтики
внутренних болезней БГМУ *И.И.Гончарик*

СОДЕРЖАНИЕ

Указатель сокращений	9
Введение	11
ГЛАВА I. ИССЛЕДОВАНИЕ HCV-ИИФЕКЦИИ И ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ	13
1.1. Изучение этиологического фактора ревматических заболеваний	16
1.1.1. Роль вирусов в развитии ревматоидного артрита	17
1.1.2. Системные заболевания соединительной ткани и вирус гепатита С	21
1.1.2.1. Системная красная волчанка и HCV-инфекция	21
1.1.2.2. Системный склероз и вирусный гепатит	22
1.1.2.3. Первичный синдром Шегрена и HCV-инфекция	22
1.2. Патология печени у пациентов с ревматическими заболеваниями	23
1.2.1. Токсические медикаментозные повреждения	23
1.2.2. Поражения на фоне системных заболеваний соединительной ткани	24

6 • СОДЕРЖАНИЕ

1.2.3. Вирусные поражения печени	26
1.2.3.1. Вирус гепатита В	27
1.2.3.2. Вирус гепатита С	28
1.3. Иммунные механизмы, провоцирующие ревматические синдромы	32
1.3.1. Ревматические заболевания, связанные с инфекцией вируса гепатита С	38
1.3.2. Патогенез ревматических заболеваний, ассоциированных с вирусом гепатита С	42
1.3.3. Клиническая картина при сочетанной патологии	44
1.4. Детекция антител к вирусу гепатита С	44
1.5. Терапия HCV-инфекции на фоне ревматической патологии	50
1.5.1. Тактика терапии	50
1.5.2. Проблемы терапии	53
1.6. Заключение	57

Г Л А В А П. ПУНКЦИОННАЯ БИОПСИЯ ПЕЧЕНИ 59

2.1. Виды биопсий печени	62
2.2. Показания к пункционной биопсии	64
2.3. Противопоказания к пункционной биопсии печени	65
2.4. Оборудование, необходимое для пункционной биопсии	66
2.5. Методики чрескожной пункционной биопсии	68
2.6. Отбор и подготовка больных	69
2.7. Диагностические процедуры и мероприятия, проводимые перед пункцией	70
2.8. Техника выполнения пункционной биопсии печени	71
2.8.1. Пункционная биопсия по Менгини (Menghini)	71
2.8.2. Чрескожная пункционная трепанбиопсия	73
2.9. Наблюдение после пункционной биопсии	74
2.10. Осложнения при пункционной биопсии печени	75
2.11. Ошибки и технические трудности при выполнении биопсии, их преодоление	79
2.12. Предварительная обработка биопсийного материала	81
2.13. Патоморфологическое определение степени активности хронического гепатита	81
2.14. Патоморфологическое определение стадии хронического гепатита	83
2.15. Заключение	85

ГЛАВА III. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА HCV В БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ.	87
3.1. Исследование мононуклеаров периферической крови	90
3.2. Тестирование на HCV биопсийного материала и слюны	92
3.3. Тропность вируса к клеточным элементам печеночной ткани	96
3.4. ПЦР-диагностика вируса гепатита С в нативной слюне	96
3.5. Сопоставление результатов молекулярной и ИФА-диагностики хронического гепатита С	109
3.6. Заключение	115
ГЛАВА IV. МЕТОД ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ ДЕПОЛЯРИЗАЦИИ.	117
4.1. Физическое обоснование и принцип метода изотермической деполяризации	125
4.2. Достоинства предлагаемого метода	131
4.3. Методика автоматического описания экспериментальных кривых тока деполяризации	133
4.4. Клиническое применение АДС-1	136
4.5. Заключение	144
Заключение	146
Список литературы	149

УКАЗАТЕЛЬ СОКРАЩЕНИЙ

АДС	Анализатор дисперсных сред
ВГС	Вирус гепатита С
ГБС	Гепато-билиарная система
ГКС	Глюкокортикостероиды
ГЦК	Гепатоцеллюлярная карцинома
ЖКТ	Желудочно-кишечный тракт
ИФА	Иммуноферментный анализ
ИФН	Интерфероны
Крио	Криоглобулины
Микст	Хронический гепатит С и В
НПВП	Нестероидные противовоспалительные препараты
ОА	Остеоартроз
ОА С	Остеоартроз в сочетании с гепатитом С
ПБП	Пункционная биопсия печени
ПСШ	Первичный синдром Шегрена
ПСШС	Первичный симптом Шегрена в сочетании с гепатитом С
ПЦР	Полимеразная цепная реакция
РА	Ревматоидный артрит

10 • УКАЗАТЕЛЬ СОКРАЩЕНИЙ

РАС	Ревматоидный артрит в сочетании с гепатитом С
РеА	Реактивный артрит
РеАС	Реактивный артрит в сочетании с гепатитом С
РФ	Ревматоидный фактор
СЗСТ	Системные заболевания соединительной ткани
СКВ	Системная красная волчанка
СКВ С	Системная красная волчанка в сочетании с гепатитом С
СС	Системный склероз
ССС	Системный склероз в сочетании с гепатитом С
ХА	Хламидийный артрит
ХВГ	Хронический вирусный гепатит
ХГ	Хронический гепатит не вирусный
ХГВ	Хронический гепатит В
ХГС	Хронический гепатит С
ХЗП	Хронические заболевания печени
ЦП	Цирроз печени
ЦИК	Циркулирующий иммунный комплекс
ANA	Антиядерные антитела
SMA	Антигладкомышечные антитела

ВВЕДЕНИЕ

Ревматические заболевания встречаются достаточно часто и поражают преимущественно лиц молодого, социально активного возраста, приводя больных к потере трудоспособности. Тяжелое прогрессирующее течение ревматической патологии, ранняя инвалидизация пациентов обуславливают актуальность проблемы и необходимость дальнейшего изучения патогенеза с целью ранней диагностики данной патологии и профилактики осложнений [17, 29, 40, 45].

В последние годы наблюдается большой прогресс в исследовании роли инфекционных и иммунологических процессов в патогенезе ревматических заболеваний [2, 195], однако проблема далека от совершенного решения. Вопрос о происхождении ревматических заболеваний по-прежнему остается открытым. Ряд авторов склоняется к вирусному генезу ревматоидного артрита, системной красной волчанки, первичного синдрома Шегрена и других иммунных заболеваний. Имеющиеся сообщения о транс-

формации хронического гепатита в ревматоидный артрит и данные об abortивном развитии артрита после трансплантации печени послужили предпосылкой для изучения роли вирусов, прежде всего вируса гепатита С (ВГС, HCV), в патогенезе и диагностике ревматических заболеваний.

В настоящее время особенно сложными являются проблемы, возникшие и развивающиеся на стыке нескольких медицинских специальностей. Одной из таких проблем является изучение особенностей диагностики и терапевтической тактики ведения ревматических заболеваний у больных, инфицированных вирусом гепатита С.

В результате исследований последних лет установлено, что HCV-инфекция имеет прочные связи с полным или неполным синдромом криоглобулинемии, а также лимфопролиферативными заболеваниями. При некоторых ревматических заболеваниях эта связь сомнительна или не доказана [18, 32, 188].

Ряд исследователей считает, что по факту обнаружения в тканях вируса гепатита С еще нельзя судить о том, является ли он непосредственным участником, триггером в развитии некоторых ревматических заболеваний или случайной «находкой» [23, 53, 57, 281].

Клиническая картина при сочетанной патологии характеризуется как атипичная или малосимптомная [151, 194, 282]. Диагностика перекрестных синдромов ревматических заболеваний и поражения печени, в том числе вирусом гепатита С, в клинической практике основана на применении достаточно сложных инструментальных, морфологических, серологических и иммуногистохимических методов, которые только начинают использоваться в лечебных учреждениях Республики Беларусь.

Распространенность гепатотропных вирусов, их участие в течении аутоиммунных заболеваний, равно как и возможности коррекции сочетанной патологии при обоих прогностически неблагоприятных заболеваниях, практически не изучены до настоящего времени [115, 116, 165].

ГЛАВА I

ИССЛЕДОВАНИЕ HCV-ИНФЕКЦИИ И ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ

Репозиторий БГМУ

Интерес исследователей к вирусному генезу некоторых ревматических заболеваний в последнее десятилетие возрастает, поскольку данная патология представляет собой не только сложную медицинскую, но и важную социальную проблему и в конечном счете отражает состояние здравоохранения в стране [50, 54].

Концепция инфекционной этиологии некоторых ревматических заболеваний привлекала внимание исследователей после обнаружения инфекционных агентов, способных вызывать хроническую артропатию у людей. Так, лаймская болезнь была идентифицирована как спирохетная инфекция; парвовирусная инфекция у взрослого часто заканчивается острым, иногда длительным полиартритом [172].

HSV-инфекцию следует учитывать в дифференциальном диагнозе острого и хронического артрита и необъяснимых ревматических синдромов [22, 100, 227]. Существует необходимость в дальнейшем детальном изучении ряда проявлений сочетанной патологии, а также в поиске целенаправленных путей их коррекции.

1.1. ИЗУЧЕНИЕ ЭТИОЛОГИЧЕСКОГО ФАКТОРА РЕВМАТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Человеческий организм функционирует в потенциально враждебном мире, где вирусные повреждения составляют значительную часть труднодиагностируемой патологии. Эпидемия HIV-инфекции (обозначается как «emerging vir») по-прежнему является одной из наиболее изучаемых среди заболеваний без четко установленного этиологического фактора. Ряд исследователей склоняется к существенной роли парвовирусов В19 при васкулитах и эрозивном артрите, герпес-вируса - при болезни Шегрена [97, 138]. Предполагается, что парамиксовирусы являются агентами развития болезни Педжета. Однако ретровирусам уделяется повышенное внимание, учитывая их этиологическую роль в развитии латентных инфекций на фоне иммунных взаимодействий при ревматических заболеваниях [238].

Известно, что полиартралгия нередко наблюдается в дебюте многих вирусных инфекций, при этом вирусиндуцированные артриты во многом похожи. Суставной синдром чаще провоцируется парамиксовирусами В19, корью, гепатитами В и С. Диапазон клинических проявлений вирусной инфекции чрезвычайно многообразен - от артрита до васкулита [152, 255]. В нашем исследовании имел место случай системного васкулита (болезнь Моя-Моя), ассоциированного с HCV-инфекцией, приведший к летальному исходу.

В ряде случаев может возникнуть манифестный вирусный артрит, причем опасность его развития существует при инфекционных заболеваниях, вызванных как ДНК-, так и РНК-содержащими вирусами. Среди вирусов, способных вызвать артрит, наиболее исследованы возбудители таких распространенных инфекций, как ветряная оспа, краснуха, корь, эпидемический паротит. Учитывая возрастающую социальную значимость гепатитов В и С, наибольший интерес в генезе артропатий представляют вирусы этих заболеваний.

При наличии сопутствующей вирусной инфекции для исключения вирусиндуцированного артрита необходим длительный период наблюдения [52].

Все вышесказанное является основанием для углубленного изучения совместного существования ревматической патологии и HCV-инфекции.

Патогенез артритов, вызванных различными вирусами, неодинаков. Некоторые вирусы обладают артротропными свойствами и поражают непосредственно суставные ткани, обуславливая таким образом развитие инфекционного вирусного артрита, который чаще всего наблюдается в виремической фазе инфекции. В других случаях к развитию реактивного вирусного артрита приводят возникающие в ходе инфекционного процесса иммунные нарушения.

1.1.1. Роль вирусов в развитии ревматоидного артрита

Ревматоидный артрит (РА) - это системное заболевание соединительной ткани, в основе патогенеза которого лежат разнообразные нарушения системы иммунитета. Суть патологического процесса при ревматоидном артрите состоит в генерализованном иммунологическом (аутоиммунном) воспалении, приводящем к развитию синовита, а также широкого спектра внесуставных органических поражений [29].

Первое описание ревматоидного артрита относится к середине XVIII в. Интересно, что изменения, характерные для этого заболевания, присутствуют в останках представителей древних цивилизаций Америки (3-5 тыс. лет назад), но отсутствуют в останках с территорий Европы и Азии. С одной стороны, подобный факт может свидетельствовать об изолированной циркуляции инфекционного агента, вызывающего заболевание. С другой стороны, современные данные о незначительных колебаниях частоты возникновения ревматоидного артрита у представителей различных этнических групп могут быть объяснены различными

комбинациями генов, определяющими предрасположенность к данному заболеванию [148]. В западной Африке ревматоидные факторы играют очень ограниченную роль в диагностике ревматоидного артрита, однако существует высокая корреляция между РА и уровнем анти-НВsAg и анти-НСV [212].

В последние годы накапливается все больше данных, свидетельствующих о том, что по меньшей мере часть случаев ревматоидного артрита и так называемых серонегативных спондилоартропатий (псориатический артрит, анкилозирующий спондилоартрит и др.) могут иметь вирусную этиологию. Так, у некоторых больных прослеживается непосредственная связь развития хронического артрита с предшествовавшей вирусной инфекцией. Кроме того, суставной синдром при вирусных артритах часто такой же, как при ревматоидном артрите. Иногда у больных хроническими артритами в пораженных суставах обнаруживается вирус, его антиген либо специфические антитела [13].

Поиск инфекционного агента, являющегося причиной возникновения ревматоидного артрита, активно ведется в последнее десятилетие [80, 178]. В качестве возможных пусковых механизмов РА рассматриваются вирусы семейства Herpesviridae, и прежде всего вирусы Эбштейна-Барра, цитомегаловирус, а также вакцинация к вирусному гепатиту В [273]. В последние годы особое внимание обращено на Т-лимфотропный вирус человека I типа (HTLV-I) и вирусы гепатитов В и С. Для этого есть предположения в связи со значительным снижением способности Т-лимфоцитов ингибировать инфицированные вирусом В-лимфоциты [219]. Имеется ряд наблюдений о молекулярном взаимодействии между иммунной системой и цитомегаловирусной инфекцией. Данный вирус встречается во многих мононуклеарах, обеспечивая хронизацию инфекции при мононуклеозе и гепатите, а также реинфекцию костного мозга при трансплантации. Описаны случаи ассоциации цитомегаловируса с васкулитами, миокардитами, ревматоидным артритом [277]. Вирус Эбштейна-Барра, вирус герпеса, возбудители желтой лихорадки и коревой краснухи

также способны вызвать острый гепатит, протекающий с артралгией [276].

Тем не менее, некоторые современные авторы не рассматривают отсутствие прямых данных, подтверждающих непосредственное участие инфекционных агентов в патогенезе ревматоидного артрита, как окончательное опровержение данной гипотезы. Концепция имеет право на существование в связи с эффективностью терапии тетрациклинами, которая доказана неоднократно в плацебо-контролируемых двойных слепых исследованиях [130].

Механизмы участия вирусов в развитии ревматоидного артрита могут быть достаточно разнообразны. Во-первых, это прямое действие вирусов на синовиоциты, характерное для острых вирусных артропатий при краснухе, герпесе I типа, лихорадке Ross River, паротидной инфекции, инфекции парвовируса B19. В этой ситуации возможно обнаружение вирусных антигенов в клетках синовиальной оболочки. Во-вторых, это развитие иммунного воспаления с изменением иммунного ответа, индукцией образования антител и иммунных комплексов [122].

Вирусы могут быть лишь одним из триггеров, участвующих в формировании ревматоидного артрита. Нельзя не сказать о снижении противовирусной защиты у больных системными заболеваниями соединительной ткани, которое происходит как за счет основного заболевания, так и вследствие иммуносупрессивной терапии, и, безусловно, является причиной частого выявления сопутствующих инфекций [161].

Установлено, что вирус гепатита С (ВГС) выявляется у 0,7-8 % больных ревматоидным артритом, тогда как ревматоидный артрит наблюдается у 5-15 % больных вирусным гепатитом С. Высокий уровень ревматоидных факторов (РФ) играет протекционную роль в отношении циркулирующих иммунных комплексов и предотвращает распространение HCV-инфекции [176].

Вместе с тем ревматоидный артрит и HCV-инфекция изучены недостаточно и лишь у небольших групп пациентов [156]. Антитела к HCV обнаруживали в сыворотке крови, синовиальной жид-

кости и слюис. Сложность интерпретации участия HCV-инфекции в общем суставном синдроме связана с одинаковым вовлечением мелких проксимальных суставов кистей в случаях обоих заболеваний, однако у пациентов с достоверным ревматоидным артритом и наличием HCV-антител преобладает ладонный теносиновит, синдром карпального канала, мелкосуставной теносиновит. У взрослых с HCV-инфекцией также ассоциировано присоединение синдрома Стилла [61, 72, 73]. Описан больной с серопозитивным ревматоидным артритом, у которого в прошлом наблюдался посттрансфузионный гепатит. В последующем у данного пациента были обнаружены положительные результаты пробы на антигены гепатита С. Артрит развился через три года после перенесенного гепатита. В генетическом материале у пациента определены HLA-DR4 и HLA-BW54, которые тесно ассоциированы с ревматоидным артритом [17, 265].

У пациентов с достоверным РА наличие *anti p25 triplet* печеночно-почечного микросомального антитела рассматривается как фактор, предрасполагающий к развитию гепатита [171]. Данный факт подтверждает существование связи между HCV-инфекцией и ревматоидным артритом, особенно в группах генетически предрасположенных индивидуумов.

Считают, что различные формы хронических артритов и даже определенные их разновидности, возможно, связаны с разными этиологическими, в том числе вирусными, агентами и неодинаковыми патогенетическими механизмами развития воспалительной реакции в синовиальной оболочке суставов. При этом хронический синовит может быть обусловлен продолжительной местной антигенной стимуляцией, которая происходит либо вследствие персистенции вирусных агентов непосредственно в клетках синовиальной оболочки, либо в результате систематического реинфицирования суставных тканей при наличии в организме устойчивого экстраартикулярного депо вирусной инфекции [13].

1.1.2. Системные заболевания соединительной ткани и вирус гепатита С

Системные заболевания соединительной ткани (СЗСТ) - это группа нозологий, характеризующихся выраженными нарушениями иммунорегуляторных процессов, изменениями гормонального статуса, развитием васкулитов и вовлечением в патологический процесс жизненно важных органов и систем [29]. Типичными и наиболее распространенными представителями группы СЗСТ являются системная красная волчанка (СКВ), первичный синдром Шегрена (ПСШ) и системный склероз (СС). Одной из неразгаданных задач ревматологии остается вопрос о роли вирусов, в том числе вируса гепатита С, в этиопатогенезе системных заболеваний соединительной ткани.

1.1.2.1. Системная красная волчанка и HCV-инфекция

Этиология системной красной волчанки до настоящего времени не установлена, однако ряд клинико-лабораторных проявлений и закономерностей течения этой болезни напоминает вирусиндуцированную патологию в сочетании с генетически детерминированными нарушениями иммунитета, вызывающими развитие аутоиммунного и иммунокомплексного процессов [86].

Спектр вирусов, являющихся возможными инициаторами системной красной волчанки, весьма широк. Складывается впечатление, что не существует единственного этиологического агента. Скорее всего, внедрение патогенных инфекционных факторов может привести к начальному повреждению ткани и запустить самоподдерживающиеся процессы воспаления в интиме сосудов и синовиальной ткани.

В литературе сообщалось всего о нескольких случаях системной красной волчанки, ассоциированной с HCV-инфекцией. Синдром взаимоотношения наблюдается в среднем в 4 % случаев. Иногда прослеживается цепочка заболеваний: острый вирусный гепатит —> аутоиммунный гепатит -> системная красная волчан-

ка [188]. Предполагается, что при СКВ имеет место хроническая вирусная инфекция в сочетании с генетически детерминированными нарушениями иммунитета с развитием аутоиммунного и иммунокомплексного процессов. Это и объясняет трансформацию заболевания.

1.1.2.2. Системный склероз и вирусный гепатит

Вирусная инфекция способна запустить фиброгенез. При хронических заболеваниях печени уровень проколлаген-III-пептида возрастает в последовательности: вирусный гепатит С - аутоиммунный гепатит - цирроз печени (ЦП). Выявлена прямая корреляция между уровнем коллагенообразования и степенью выраженности цитолитического синдрома и портальной гипертензии [192].

Случай системного склероза в сочетании с гепатитом С и первичным билиарным циррозом зарегистрирован у женщины. В анамнезе у пациентки отмечен ревматоидный артрит в течение последних четырех лет. В крови определялся ревматоидный фактор, anti-Scl-70, антимитохондриальные антитела, антитела к центромере, выраженная гипергаммаглобулинемия. Активность заболевания хорошо контролировалась с помощью D-пенициламина и урсодезоксихолевой кислоты [192].

При дерматомиозите ассоциация с HCV-инфекцией составляет около 10 %. Отмечается, что HCV-антитела не присутствовали в мышцах [260].

1.1.2.3. Первичный синдром Шегрена и HCV-инфекция

Первичный синдром Шегрена sporadически связан с HCV-инфекцией. Заболеванию особенно подвержены лица, имеющие аутоантитела SS-A, SS-B. Сходство синдрома Шегрена с моноклональными гаммапатиями и лимфопролиферативными нарушениями в характере поражения В-лимфоцитов представляет интерес, так как оно может быть связано с HCV-инфекцией [66, 196]. Установлено сходство антигенной структуры выводных протоков слюнных

желез и внутривенных желчных протоков. Соответственно, велика роль обнаружения антигенов преимущественно к протокам слюнных желез.

1.2. ПАТОЛОГИЯ ПЕЧЕНИ У ПАЦИЕНТОВ С РЕВМАТИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Поражения печени при системных заболеваниях соединительной ткани можно условно разделить на три группы:

1. Токсические - поражения печени на фоне применения медикаментов (интерферонов, нестероидных противовоспалительных препаратов, H₂-блокаторов), интенсивного использования препаратов синтетического происхождения [12, 16, 107, 168, 229, 175, 180];

2. Иммунные поражения печени: первичные (при аутоиммунном гепатите и первичном билиарном циррозе) и вторичные (на фоне системных заболеваний соединительной ткани и специфической вакцинации) [63, 261];

3. Вирусные - поражения печени у больных вирусными гепатитами и неидентифицированных вирусоносителей [96, 231, 163, 159].

1.2.1. Токсические медикаментозные повреждения

Исторически осталось предостережение к назначению H₂-блокаторов первого поколения пациентам с сочетанным поражением печени и желудочно-кишечного тракта на фоне терапии ревматоидного артрита в связи с опасностью развития острого медикаментозного гепатита [30].

Заслуживает внимания история болезни 32-летнего мужчины, который страдал ревматоидным артритом в течение девяти лет. Болезнь плохо поддавалась базисной терапии, и в ответ на лечение нестероидными противовоспалительными препаратами (пирпрофеном) развилась фульминантная печеночная недостаточность,

потребовавшая пересадки органа. После трансплантации печени у пациента отмечалась ремиссия ревматоидного артрита в течении трех с половиной лет. Утверждение, что положительный эффект был достигнут благодаря иммуносупрессивной терапии, а не пересадке органа, является спорным [228].

1.2.2. Поражения на фоне системных заболеваний соединительной ткани

Клиническими формами гепатотропных поражений на фоне системных заболеваний соединительной ткани являются гепатоз, гепатит, цирроз и гепатоцеллюлярный рак печени [8, 41, 225].

Известно, что хронический гепатит встречается при ревматоидном артрите в 1,9-15 % случаев [224]. Подобные ассоциации отмечены в основном у женщин в возрасте 55-60 лет. Хронический гепатит развивался после начала РА, с опозданием на 1-27 лет. Как правило, у пациентов регистрировалась поликлональная гиперглобулинемия и признаки печеночной недостаточности. Гистологически у большинства отмечен хронический гепатит с высокой активностью. Проведение терапии глюкокортикостероидами (ГКС) в 80 % случаев улучшало гистологическую картину печени [58].

Поражения печени при системной красной волчанке, по мнению ряда авторов, неоднозначны [183, 221]. В большинстве источников указывается, что вовлечение органа в воспалительный процесс редко бывает значительным и специфичным. Как следствие вовлечения брюшины в патологический процесс отмечается перигепатит. Имеет место также тромбоз сосудов воротной вены без повреждения стенок. На основании патоморфологических материалов Harvey A.M. и др. (1954) констатировали, что наиболее распространенными поражениями печени при системной красной волчанке являются жировая инфильтрация, центрлобулярная атрофия и некроз. Исследователи указывали на отсутствие параллелизма между клиническими проявлениями морфологических изменений печени и функциональными печеночными пробами.

Минимальные изменения в печени - такие как фиброз системы воротной вены со слабой или умеренной клеточной инфильтрацией, нарушение балочного строения, пролиферации в желчных протоках и лимфоцитарных гранулемах, фокальный некроз, жировая инфильтрация - присутствовали в более чем половине случаев, но сами по себе они не могли быть причиной клинических или биохимических манифестаций поражения печени [167].

В отличие от классической системной красной волчанки гепатит имеет аутоиммунный характер, о чем свидетельствует высокая частота обнаружения антител к гладкой мускулатуре (SMA) - до 81 %. При системной красной волчанке результат этого теста отрицательный [78, 133, 139].

Гепатомегалия при системной красной волчанке встречается в 23-34 % случаев. Чувствительность органа при пальпации обычно отсутствует, за исключением случаев сочетания СКВ и вирусного гепатита. Функциональные печеночные пробы при этом остаются нормальными. Желтуху отмечают у 3-11 % больных системной красной волчанкой. Наиболее часто ее причиной является гемолитическая анемия или гепатит. В ряде случаев причиной может быть и подслизистый отек билиарного тракта, ведущий к обструкции печеночных протоков [4].

В 3-18 % случаев наблюдается системный склероз и хронические заболевания печени. Отмечается доброкачественность течения обоих заболеваний. Помимо известного CREST-синдрома описан PASC-критерий (первичный билиарный цирроз, антитела к центрумере, кератоконъюнктивит).

При системном склерозе поражение печени обычно маскируется основной патологией (клинически при целенаправленном опросе определяется тяжесть, тупые боли в правом подреберье). При этом морфологически обнаруживали фиброз портальной стромы и сосудов, перидуктальный и периваскулярный фиброз, признаки жировой дистрофии и некроза гепатоцитов. Отмечено нарушение функции печени как органа, участвующего во всех видах обмена: белковом, углеводном, жировом и гормональном.

Страдает антитоксическая функция печени; нарушается выработка протромбина, фибриногена и других факторов свертывания крови. Длительный дуоденостаз на фоне основного заболевания приводит к дисбактериозу, что, в свою очередь, способствует образованию токсических для печени продуктов, жировой инфильтрации печени, проникновению инфекции в ткани органа и нарушению оттока желчи [279].

Частота клинических проявлений поражения печени при первичном синдроме Шегрена, по данным разных авторов, варьирует от 6 до 72 %. Клинические признаки характеризуются гепатомегалией в 11—42 % случаев. В лабораторных показателях у 5-24 % больных умеренно повышается уровень печеночных ферментов, у 10 % - билирубина, у 7 % обнаруживаются антимитохондриальные антитела [251]. Морфологическая картина печени при первичном синдроме Шегрена характеризуется тремя типами изменений: картиной хронического неспецифического гепатита (33 %), различными видами дистрофии гепатоцитов и умеренной лимфогистиоцитарной инфильтрацией (50 %), только дистрофическими изменениями гепатоцитов (17 %) [208].

1.2.3. Вирусные поражения печени

Вирусы гепатитов принадлежат к различным таксонометрическим группам и обладают различными биологическими свойствами. Паренхиматозный гепатит у человека может быть обусловлен и другими вирусами (семейства *Arenaviridae*, *Bunyaviridae*, *Flaviviridae*, *Filoviridae* и *Herpesviridae*), при этом печеночные поражения являются одним из проявлений виремии. Отличительной особенностью вирусов парентеральных гепатитов является склонность к хронизации [20]. Однако 10-20 % случаев посттрансфузионных гепатитов остаются серонегативными. По этому поводу рассуждают так: либо существующие методы диагностики недостаточно чувствительны, либо открытым остается вопрос о существовании других вирусных гепатитов [213].

Основной путь заражения вирусами гепатитов В и С парентеральный - вследствие медицинских манипуляций (экстракорпоральных процедур, пункций суставов, ортопедических операций, трансплантаций органов и тканей, хронического гемодиализа) при отсутствии в должном ассортименте разового инструментария, несоблюдении санитарных норм, а также при переливании крови и ее препаратов [83, 140, 220, 223, 240]. При этом в равной степени страдают как пациенты, так и медицинский персонал [98, 147, 189]. Глобальной проблемой становится заражаемость при инъекционной наркомании [174]. Реже инфицированность происходит половым или перинатальным путем [205, 275, 226].

1.2.3.1. Вирус гепатита В

Вирус гепатита В (HBV) относится к группе вирусов *Нерадна* (от лат. слов *Нераг* - печень и *DNA* - ДНК, т. е. ДНК-содержащий вирус). Середина вириона - нуклеокапсид в форме икосаэдра - состоит из 180 капсомеров. Он обладает липосодержащей внешней оболочкой. Структура генома HBV представляет собой двунитсвую молекулу ДНК, которая имеет в своем составе одонитевый участок [49, 186].

Серологическими маркерами вируса гепатита В являются: 1) HBU-ДНК; 2) ДНК-полимераза; 3) HBeAg; 4) HBsAg; 5) HBeAb; 6) HBsAb; 7) HBcAb IgG; 8) HBcAb IgM. По широте спектра клинико-патологических вариантов гепатит В не имеет себе равных в инфекционной патологии [42]. Примером взаимоотношений организма и хронического гепатита В служит пожизненное носительство. Патогенетической основой такого состояния являются интегративные процессы вируса с геномом клетки. При этом выявляются HBsAg, отсутствует ДНК-полимераза, HBeAg и anti HBc. При репликативном варианте обнаруживают ДНК-полимеразу, HBeAg и anti HBc.

В прогностическом плане появление anti HBe имеет неблагоприятное значение в остром периоде болезни и отражает тенденцию к тяжелому течению гепатита. Наличие anti HBc класса IgM

свидетельствует о репликации вируса и активной реакции со стороны печени.

В рамках инфицирования вирусом гепатита В может развиваться острый вирусный гепатит (в том числе фульминантные формы), который у 10-15 % больных хронизируется. Морфологически доброкачественные формы HBV характеризуются наличием воспалительного инфильтрата, состоящего из лимфоцитов, макрофагов, плазматических клеток и нейтрофильных лейкоцитов в портальных трактах. Клетки инфильтрата при этом не проникают за пограничную пластинку [37].

1.2.3.2. Вирус гепатита С

Вирус гепатита С (HCV) был открыт в 1989 г. сотрудниками американской компании Кайрон (Chiron). По данным Всемирной организации здравоохранения, он поразил приблизительно 3,5 миллиона человек в США и около 10 миллионов - в Европе. Примерно в 40 % случаев источник приобретения инфекции не может быть идентифицирован [77, 170].

HCV в таксономической иерархии принадлежит к семейству тогавирусов, к подгруппе флавивирусов. Внешнюю оболочку вируса составляет липидный бислой, происходящий из мембран клетки-хозяина и включающий в себя вирусные гликопротеины [278]. За синтез структурных белков отвечают зоны геномов С и Е. Синтез неструктурных белков обеспечивают зоны NS (табл. 1.1).

Таблица 1.1

**Схема строения РНК вируса гепатита С.
Кодированные белки и их функции**

Ген	C	E1	E2/NS1	NS2	NS3	ANS4B		ANS5B	
Белок	p21	gp31	gp70	p21	p70	p8	p27	p58	p68
Функция	Капсид	Оболочечные гликопротеины		Протеаза	Хеликаза	Кофактор NS3 протеаз	?	?	РНК-полимераза

Вирус гепатита С содержит структурные (core, E1, E2, p7) и неструктурные (NS1, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) белки. Структурные белки формируют вирусную частицу, неструктурные участвуют в репликации генома вируса гепатита С и процессе синтеза полипротеина-предшественника [111].

Основными функциями неструктурных вирусспецифических белков являются синтез вирусного полипротеина-предшественника наряду с клеточными эндопептидазами и репликация геномной РНК-ВГС.

Механизм инициации транскрипции РНК вируса гепатита С недостаточно изучен. Ряд исследователей показали, что начало синтеза РНК связано с образованием концевой вторичной структуры, которая служит «затравкой» для ШЗВ-полимеразы. С другой стороны, получены экспериментальные данные о возможности синтеза вирусной РНК без «затравки» - *de novo*. Показано, что эффективность синтеза РНК зависит от первого нуклеотида в дочерней цепи: в случае гунилового остатка она выше, чем в случае аденилового. В связи с разной способностью узнавания К85В-белком АТФ и ГТФ происходит несимметричный синтез и в клетке появляется значительно больше позитивных молекул РНК-ВГС, чем негативных [256], что во многом объясняет полиморфизм изменений структуры вируса гепатита С.

Полагают, что артротропность некоторых вирусов, в том числе HCV, связана со специфическими поверхностными структурами, напоминающими лиганды, которые распознают комплементарные им молекулы на мембранах синовиоцитов и, возможно, эндотелиальных клеток микроциркуляторного русла синовиальной оболочки [13].

Несмотря на интенсивное изучение HCV в последние 15 лет, он до сих пор остается загадочным вирусом. Трудности в его исследовании и создании вакцины против него связаны в основном с отсутствием адекватной для вируса культуры клеток, высокой гетерогенностью и изменчивостью HCV [44].

Важным свойством персистенции вируса гепатита С является его изменчивость с образованием мутантных штаммов, «ускользающих» из-под иммунного пресса. Изменчивость HCV становится перманентной, причем скорость мутации превышает скорость репликации. Поэтому репродукция вируса происходит в виде симбиоза огромного количества близких, но иммунологически разных штаммов, получивших название *quasispecies*. При этом происходит своеобразное «соствязание на скорость» между образованием новых вариантов и их нейтрализацией. Таким образом, вирус гепатита С уходит из-под иммунного надзора [44].

Источником инфекции вирусного гепатита С является больной с острым или хроническим гепатитом С, а также вирусоноситель. Гепатит передается парентеральным, половым путями и от матери к плоду. Рост наркомании и увеличение количества сексуальных партнеров способствуют быстрому распространению вирусного гепатита С [155].

Инкубационный период вирусного гепатита С составляет 2-12 недель. Для этого гепатита характерно преобладание безжелтушного варианта. При развитии клинически выраженных форм гепатит С протекает с теми же периодами, что и другие вирусные гепатиты. Заболевание обычно начинается постепенно. В преджелтушном и желтушном периоде интоксикация выражена слабо. Продолжительность желтушного периода - около двух недель. В острой стадии вирусного гепатита С уровень аминотрансфераз выше нормы в 3-5 раз. Чаще всего вирусный гепатит С протекает в легкой форме, но иногда возможны фульминантные формы болезни. Характерной особенностью вирусного гепатита С является частое развитие хронических форм болезни (по данным разных авторов, от 30 до 80 % случаев) [153].

Клиническая картина при вирусном гепатите С. При инфицировании HCV развивается труднодиагностируемый, чаще безжелтушный, острый вирусный гепатит С, который примерно у 70 % больных переходит в хроническую форму. У 40-60 % больных вирусный гепатит С трансформируется в цирроз печени

с возможным дальнейшим развитием гепатоцеллюлярной карциномы [158, 169].

Клиническая симптоматика HCV-инфекции зависит от стадии процесса: минимальное количество специфических симптомов выявляется на ранних стадиях, когда этиотропная терапия более эффективна, а максимальное - при поздних, конечных стадиях, когда эффективность специфической терапии очень низка (табл. 1.2).

Таблица 1.2

Фазы течения гепатита С

Фаза	Клинический вариант	Продолжительность болезни
Острая	Острый гепатит С	0-5 месяцев
Латентная	HCV-пастинфекция	0,5 - 3 года
	Хронический гепатит С	1-15 лет
Реактивации	Цирроз печени	16-20 лет
	Гепатокарцинома	более 20 лет

По данным С.Н.Соринсона [44], первыми признаками гепатита С являются астено-вегетативные, несколько позже возникают диспептические. Один из наиболее частых объективных признаков - гепатомегалия, в то время как спленомегалия выявляется реже. Желтуха, как и внепеченочные знаки, при HCV проявляется редко и выражена незначительно. Возможны аллергические проявления болезни: миалгии, артралгии, кожный зуд.

Ряд исследований свидетельствует о том, что у многих больных HCV-инфекция выявляется случайно, при обследовании их как потенциальных доноров [50]. Около трети больных гепатитом С обращаются к врачам по поводу неспецифических жалоб, чаще на утомляемость и неопределенные боли в правом подреберье [43, 135]. Авторы отмечают скудность клинических симптомов начальных стадий вирусного гепатита С: гепатомегалия выявлена только у четверти больных, спленомегалия - у единичных пациентов. Внепеченочные признаки HCV обнаруживаются только на поздних стадиях заболевания. Биохимические данные сущест-

венно не изменяются: аминотрасферазы увеличены только у половины пациентов, при этом их значения колеблются. Показатели билирубина, щелочной фосфотазы, гамма-глутамил транспептидазы, общего белка, альбумина, глобулинов и протромбина на начальных стадиях заболевания остаются в пределах нормы, а панцитопения развивается только при прогрессировании портальной гипертензии [112].

1.3. ИММУННЫЕ МЕХАНИЗМЫ, ПРОВОЦИРУЮЩИЕ РЕВМАТИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ

В целом исследования по данной проблеме немногочисленны, однако указывается, что а-интерферон может вызывать субклинический ревматоидный артрит у пациентов даже без предшествующего артрита [235]. Описан случай развития тяжелого ревматоидного артрита после лечения интерферонами (ИФН) по поводу хронического гепатита С. Артрит не перешел в ремиссию после прекращения терапии ИФН [60].

Подобный случай имел место у женщины 28 лет, лечившейся интерферонами по поводу вирусного гепатита в течение 12 недель. В дальнейшем у пациентки развился упорный артрит с высоким титром ревматоидного фактора (РФ). Исследователи связывают подобное увеличение титров РФ с прямым либо косвенным (через печень) иммуностимулирующим действием а-интерферона на синтез ревматоидного фактора [216].

Системный подход к профилактике гепатита В путем вакцинации предусматривает развитие побочных эффектов в виде артритов, не ассоциированных с HLA-B27 антигеном (т. е. не носящих реактивный характер), а напоминающих ревматоидный артрит. В рамках данного подхода выработано правило рассматривать антиген HLA-DR4 у пациентов как наиболее неблагоприятный в плане индукции ревматоидного артрита при вакцинации [145, 232].

При аутоиммунных заболеваниях печени вовлечение в патологический процесс многих органов и тканей объясняется общностью антигенной структуры. Преимущественный иммунный ответ направлен на эпителиальную ткань и, возможно, на структуры коллагена [75, 215].

Аутоиммунный компонент патогенеза присутствует при гепатитах В, С и D. Вирус гепатита С вступает в многообразные взаимодействия с иммунной системой [117]. Он вызывает большое количество заболеваний предположительно аутоиммунного происхождения, таких как криоглобулинемия, тиреоидит, некоторые формы артритов, гломерулонефритов, поражений кожи [271, 241]. Среди маркеров HCV, указывающих на аутоиммунный компонент заболевания, особый интерес представляют антитела к микросомам клеток печени и почек. Установлено, что данные антитела вступают в реакцию с белками глюкуронилтрансферазы. Однако аутоиммунная реакция при аутоиммунном гепатите отличается от реакции, наблюдающейся при вирусном гепатите. При аутоиммунном гепатите аутоантитела обычно более однородны и направлены против конкретных линейных эпитопов (табл. 1.3) [71, 185, 247].

Таблица 1.3

**Спектр аутоантител при вирусных
и аутоиммунных поражениях печени**

Этиология хронического гепатита	Обнаруживаемые антитела
Гепатит В	ANA, SMA, антиактин-аЬ
Гепатит С	ANA, SMA, LKM-1, анти-GOR
Гепатит D	LKM-3
Аутоиммунный гепатит 1 типа	ANA, SMA, антиактин-аЬ в титре >1:20
Аутоиммунный гепатит 2 типа	LKM-1 в титре >1:20
Аутоиммунный гепатит 3 типа	SLA в титре >1:20

Примечание: ANA - антиядерные антитела, SMA - антигладкомышечные антитела, LKM-1 и LKM-3 - печеночно-почечные микросомальные антитела, SLA - антитела к растворимому печеночному антигену [119].

Иммунопатологические реакции имеют важное значение в патогенезе хронического вирусного гепатита и могут быть обусловлены различными факторами: продукцией органо-неспецифических антител, иммунокомплексным синдромом, нарушением регуляции клеточного иммунитета - придающими заболеванию системный характер [103]. HCV обнаружен у 50 % пациентов с аутоиммунным гепатитом, у 23 % с первичным билиарным циррозом, у 20 % с ревматоидным артритом, у 59 % с миеломной болезнью. Прямая связь HCV с развитием аутоиммунного гепатита маловероятна, поэтому оценка положительных результатов на анти-HCV у больных аутоиммунными заболеваниями должна проводиться методом молекулярной диагностики - полимеразной цепной реакцией (ПЦР) [56].

В связи с тем, что при аутоиммунных заболеваниях печени в патологический процесс часто вовлекаются суставы, возникает необходимость проведения диагностики истинного ревматоидного артрита и полиартритов другого генеза [149, 270, 249]. Сочетание РА с первичным билиарным циррозом регистрируется в 10 % случаев типичного поражения лучезапястных, межфаланговых, коленных и голеностопных суставов. Отмечается болезненность, отечность суставов, нарушение их подвижности, генерализованная лимфоаденопатия, атрофия мускулатуры в области пораженного сустава, рентгенологические изменения, как при I-II стадиях ревматоидного артрита [209].

Вместе с тем при сочетании ревматоидного артрита и гепатита пациенты, как правило, не имеют анкилозов и контрактур суставов. При гистологическом исследовании суставной капсулы отмечается пролиферация поверхностных синовиальных клеток, массивная лимфоидная инфильтрация, образование лимфоидных фолликулов, плотных отложений фибрина на поверхности синовиальной оболочки или в интерстициальной ткани [234].

У больных с HCV-инфекцией часто обнаруживается гипокомплементемия. У 44-100 % больных с хронической HCV-инфек-

цией выявляется ревматоидный фактор, у 80 % наблюдается по крайней мере один аутоиммунный феномен. В 20-38 % случаев это антинуклеарные антитела, в 66 % - антитела к гладкой мускулатуре (SMA), в 22-28 % - антитела к кардиолипину. Кроме того, характерными находками у пациентов являются антимицросомальные антитела (LKM), анти тиреоидные антитела, а также образование и отложение иммунных комплексов, содержащих HCV и антитела к нему. Риск развития аутоиммунных проявлений связан с наличием генов гистосовместимости. Так, количество аутоиммунных синдромов значительно выше в группе HLA-DR4, нежели в группе HLA-DR2 при ревматоидном артрите [5, 89, 246].

Было бы странно, если бы такое разнообразие иммунных и аутоиммунных феноменов у больных с хронической HCV-инфекцией не сопровождалось ревматическими жалобами и симптомами, нередко выходящими на первый план в клинической картине и в ряде случаев определяющими прогноз заболевания (рис. 1.1) [211,263].

Проблема того, какие ревматические заболевания имеют случайную связь с HCV-инфекцией, а какие предрасположены к ней или вызваны ею, подлежат дальнейшему исследованию. Документальных сведений о частоте и разнообразии ревматических заболеваний, связанных с HCV-инфекцией, недостаточно. Среди клинических проявлений доминирует суставно-мышечный синдром и фибромиалгия [84, 91, 143].

Частое сочетание аутоиммунной патологии печени с поражением других органов свидетельствует о наличии звеньев патогенеза, общих для всех аутоиммунных заболеваний [164, 179]. В данной группе больных наиболее часто встречаются HLA-B8 и DR3 (в иммуногенетическом аспекте). При наличии гена B8 характерно: 1) увеличенный уровень гуморального ответа; 2) снижение функциональной активности Т-супрессоров; 3) поликлональная активация В-лимфоцитов, следовательно, выработка всего спектра антител к чужеродным и собственным тканям.



Рис. 1.1. Внепеченочные проявления хронической HCV-инфекции

По современным представлениям, ревматоидный артрит - хроническое системное заболевание соединительной ткани с прогрессирующим поражением преимущественно периферических суставов по типу симметричного эрозивно-деструктивного полиартрита. Заболевание обусловлено генетическим несовершенством иммунорегуляторных процессов и часто сочетается с другими аутоиммунными нарушениями. Сложности возникают при оценке системности проявлений, в основном лимфаденопатии и гепатомегалии, при сопутствующей HCV-инфекции [121]. По данным литературы, при самостоятельном ревматоидном артрите небольшое увеличение печени отмечается в 25 % случаев, а функциональные нарушения - в 60-80 %. Отмечается преимущественное повышение концентрации в сыворотке щелочной фосфатазы, наличие антинуклеарных и антимитохондриальных антител, однако в целом однозначные результаты не получены [257].

Согласно литературным данным, механизм реагирования или воздействия иммунной системы на антиген является многофакторным процессом. Он включает прежде всего специфическую блокаду чужеродного антигена путем его связывания и нейтрализации с последующей элиминацией продуктов распада [36].

Неизвестно, в какой степени аутоиммунные процессы участвуют в повреждении тканей при вирусном гепатите. Кроме того, считается, что вирусы вызывают аутоиммунные заболевания, включая аутоиммунный гепатит. В практическом плане важно различать аутоиммунный и вирусный гепатит, так как кортикостероиды увеличивают продолжительность жизни больных аутоиммунным гепатитом, в то время как интерфероны могут серьезно ухудшить их состояние [193].

HCV-инфекция усиливает воспаление и способствует выработке ревматоидного фактора. Таким образом, можно предположить, что она способна вызвать развитие некоторых коллагенозов или усилить их клинические проявления.

В настоящее время рассматриваются два варианта взаимодействия иммунной системы с HCV-инфекцией: 1) прямое - вовле-

чение непосредственно в патогенез ревматических заболеваний вируса гепатита С; 2) опосредованное - через развитие синдрома криоглобулинемии к системному васкулиту или с клиническими проявлениями по типу первичного синдрома Шегрена [88, 252].

Хроническая антигенная стимуляция также ведет к многократным мутациям в лимфоидной системе и предрасполагает к участию HCV-инфекции и в лимфопролиферативных заболеваниях по типу неходжкинской лимфомы [128, 244].

1.3.1. Ревматические заболевания, связанные с инфекцией вируса гепатита С

Как уже было указано, причиной хронического артрита может быть персистирующая вирусная инфекция внесуставной локализации, например, при хроническом вирусном гепатите С. Персистенция ВГС в печени также обусловлено органотропностью возбудителя. Возникновение и поддержание хронического синовита связывают с иммунокомплексными нарушениями.

Полагают, что постоянная избыточная продукция в первичном очаге и выход в кровоток вирусных антигенов при хронических вирусных инфекциях приводят к образованию циркулирующих иммунных комплексов. Состав таких комплексов, их размеры, способность фиксировать комплемент и некоторые другие особенности могут придавать подобным высокомолекулярным соединениям патологические свойства [13].

Наиболее доказанной является ассоциация вируса гепатита С и криоглобулинемии. Криоглобулины - группа сывороточных белков, обладающих аномальной способностью к обратимой преципитации (образованию геля при температуре ниже 37 °С). Смешанная криоглобулинемия может быть основной или вторичной по отношению к заболеванию соединительных тканей, инфекции или хроническому поражению печени. Антитела к HCV проявляются в криопреципитатах вне зависимости от генотипа вируса гепатита С [266].

В зависимости от состава криоглобулины разделяются на три основных типа: тип I состоит из моноклональных иммуноглобулинов IgG, IgA или IgM, реже моноклональных легких цепей (белок Бенс-Джонса); тип II (смешанная криоглобулинемия) состоит из моноклональных иммуноглобулинов (IgG, IgA или IgM), обычно обладающих антиглобулиновой активностью против IgG; тип III (также смешанная криоглобулинемия) состоит из поликлональных иммуноглобулинов одного или нескольких классов или из молекул фибропектина, а также липопротеидов и C3-компонента комплемента. Наиболее часто встречается третий тип криоглобулинемии (60-75 % случаев). У 30 % больных развитие криоглобулинемии происходит в отсутствие ведущего заболевания (первичная криоглобулинемия). Подобные криоглобулины определяются у больных со многими вирусными (включая HCV), бактериальными и паразитарными инфекциями, а также с аутоиммунными и опухолевыми заболеваниями [222].

С циркуляцией криоглобулинов связано развитие своеобразного клинко-иммунологического синдрома, получившего название смешанной криоглобулинемии (синдром Мельтцера-Франклина) [151]. Примерно у 30 % больных криоглобулинемия наступила по неизвестной причине, в связи с чем получила название «эссенциальной» [184].

В настоящее время причинно-следственная связь между HCV и смешанной криоглобулинемией считается окончательно доказанной, поскольку у подавляющего большинства больных криоглобулинемией обнаружены не только антитела к HCV, но и РНК вируса. Также было показано присутствие вируса гепатита С в биоптатах, взятых из участков пораженной васкулитом кожи этих больных [69]. В связи с этим некоторые исследователи предлагают рассматривать смешанную криоглобулинемию как модель вирусиндуцированного системного васкулита [202, 236]. Высказывается также предположение, что в иммунные комплексы могут входить геномные последовательности HCV и/или связанные с ним антигены [142]. Известный в области ревматологии спе-

циалист V. Agnello, проанализировав данные многочисленных исследований, пришел к выводу, что при криоглобулинемической пурпуре иммунные комплексы наиболее вероятно состоят из IgG, моноклонального IgM ревматоидного фактора и HCV. Возможно, именно этот тип криоглобулинов отвечает за развитие внепеченочных проявлений гепатита С.

По данным M. Manns, внепеченочные проявления хронического гепатита С разделяют на строго ассоциированные с вирусной патологией и те, взаимосвязь которых с ХГС пока еще окончательно не доказана.

Существует прочная связь гепатита С со следующими заболеваниями: полным или неполным синдромом криоглобулинемии, мембранопролиферативным гломерулонефритом и порфириями кожи. Возможная связь - с плоским лишаем, неходжкинской лимфомой, периферической невропатией, реактивными полиартритами, синдромом Шегрена. Аутоиммунный тиреоидит, ирит, иридоциклит, узелковый полиартрит, дерматомиозит, ревматоидный артрит, системная красная волчанка в сочетании с хроническим гепатитом С являются, вероятно, случайными совпадениями [197].

Хотя связь между HCV-инфекцией и рядом внепеченочных проявлений хронического гепатита установлена, она недостаточно понятна. В некоторых случаях связи HCV-инфекции с некоторыми ревматическими заболеваниями являются прочными, в некоторых - только вероятными [272].

HCV-инфекцию следует учитывать в дифференциальном диагнозе острого и хронического полиартрита, а также необъяснимых ревматических синдромов [269]. В патогенезе внепеченочных поражений при HCV-инфекции рассматриваются иммунопатологические реакции в ответ на вирус, реплицирующийся в печени и вне ее (в тканях лимфоидного и нелимфоидного происхождения) [126, 160].

Роль инфекции в развитии аутоиммунных заболеваний может проявляться также в индукции иммунного ответа на перекрестно реагирующие антигены вирусов, бактерий и нормальных тканей

организма. Например, антимиохондриальные антитела при первичном билиарном циррозе перекрестно реагируют с антигенами нормальной микрофлоры кишечника, в том числе с *Escherichia coli*. Выработка IgG характерна для первичного билиарного цирроза, гепатитов В и С, Нерес-вируса, что свидетельствует о перекрестных реакциях [173, 201].

Усиливается синтез С4- и В4-фракций лейкотриенов, ответственных за хронизацию воспалительного процесса в печени при хроническом гепатите С с высокой степенью активности вирусной этиологии, что является критерием тяжести заболевания. Уровень простагландинов при гепатитах снижается, так как снижается уровень синтезирующих их ферментов (липазы и простагландинсинтетазы) в связи с недостаточностью фосфолипазы и жирных кислот [106, 242, 259]. Это обстоятельство послужило предпосылкой для исследования данных компонентов в нашей работе.

Из системных признаков HCV отмечают артралгии и артриты, поражение скелетных мышц, миокардит, перикардит, поражение легких (фиброзирующий альвеолит, васкулиты, гранулематоз), панкреатит, гастрит, синдром Шегрена, тубулоинтерстициальный нефрит, хронический гломерулонефрит, эндокринные нарушения, болезнь и синдром Рейно, болезнь Такаюсу, эссенциальную смешанную криоглобулинемию и различные кожные проявления, включая аллергический капиллярит, кожный васкулит и папулярный акродерматит у детей, а также патологию крови (иммунные цитопении, аутоиммунную гемолитическую анемию, парциальную клеточную аплазию, моноклональную иммуноглобулинопатию) и т. д. [198, 199].

Углубленное изучение гистопатологических, клинических и иммунологических особенностей хронической HCV-инфекции показало, что в патогенезе поражения печени, помимо прямого цитопатического эффекта вируса, могут играть роль и иммунные механизмы. В частности, в биоптатах печени больных ревматоидным артритом в сочетании с HCV-инфекцией были обнаружены агрегаты лимфоцитов, внутриворотальная лимфоцитарная инфильт-

трация, повышенная экспрессия молекул адгезии и усиленное высвобождение цитокинов [124]. Более того, появились многочисленные свидетельства того, что иммунные реакции, связанные с HCV, приводят к продукции разнообразных гепатонеспецифических аутоантител и развитию внепеченочных манифестаций хронической HCV-инфекции [90].

Оказалось, что вирус гепатита С не только гепатотропный, но и лимфотропный. Описана его репликация в мононуклеарных клетках крови, что может служить постоянным стимулом для активации Т- и В-лимфоцитов с последующим образованием аутоантител и циркулирующей иммунных комплексов [101, 127].

1.3.2. Патогенез ревматических заболеваний, ассоциированных с вирусом гепатита С

В настоящее время наиболее важным звеном патогенеза ревматических заболеваний считаются генетически обусловленные нарушения иммунитета, сопровождающиеся повышенным образованием аутоантител к широкому спектру аутоантигенов (ядерных, цитоплазматических, антигенов клеточных мембран и др.) и появлением в кровотоке циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Фиксация ЦИК в стенках сосудов дает начало системному воспалению в органах и тканях организма [28]. При хроническом гепатите С наблюдается также прямое цитопатическое действие и проникновение вируса как в клетки печени, так и в лимфоциты и макрофаги, что дает основание говорить о системном заболевании организма. При этом HCV высокомутагенен и слабоиммуногенен, следовательно, механизмы его уничтожения в макроорганизме не срабатывают [55].

Несмотря на применение довольно широкого спектра вирусологических методов, в том числе самых современных, попытки выделения вируса гепатита С из суставных тканей при ревматоидном и других хронических артритах часто дают отрицательные результаты. В связи с этим привлекает внимание гипотеза о воз-

можной триггерной роли вируса гепатита С, который «запускает» самоподдерживающийся местный иммунный воспалительный процесс в синовиальной оболочке и обуславливает, таким образом, хроническое течение артрита. При этом предполагается, что вследствие нарушений механизмов регуляции иммунного ответа у предрасположенных индивидов после неverifiedированного острого процесса сохраняется инфильтрация синовиальной оболочки лимфоцитами и макрофагами, которые продолжают продуцировать цитокины, поддерживающие местный воспалительный процесс. Первоначально считалось, что такой дефект регуляторных механизмов иммунных реакций генетически детерминирован на уровне системы HLA, а также врожденной недостаточности Т-супрессорной функции, способствующей срыву толерантности [13].

В последние годы все большее признание получает точка зрения, согласно которой нарушения регуляции иммунных реакций, наблюдающиеся при ревматоидном артрите и других формах хронических артритов, являются вторичным феноменом и непосредственно связаны с вирусной мимикрией вируса гепатита С. Сущность данного феномена заключается в наличии у вирусов молекулярных структур, сходных в антигенном отношении с нормальными тканевыми белками синовиальной оболочки. Вследствие этого в процессе вирусного инфицирования образуются перекрестно реагирующие антитела или изменяется иммунологическая толерантность к компонентам собственных тканей с активацией супрессированных в норме аутореактивных клонов В- и Т-лимфоцитов. Это может иметь значение для поддержания в синовиальном хронического воспаления, возникающего вследствие местной продукции специфических антител и образования иммунных комплексов при интеркуррентных вирусных заболеваниях [13].

Персистенция HCV дает широкий спектр клинико-морфологических вариантов: от стойких признаков активного заболевания и продолжающегося повреждения печени с развитием в дальнейшем клиники многосистемного поражения до состояния

клинического выздоровления с очень низким уровнем вирусной репликации и непрогрессирующим характером гистологических изменений [19].

1.3.3. Клиническая картина при сочетанной патологии

Самые тщательные попытки зачастую не позволяют диагностировать у больных вирусным гепатитом С какое-либо конкретное ревматическое заболевание или выделить определенный симптомокомплекс, характерный для хронической HCV-инфекции с криоглобулинемией [6]. В клинической картине преобладают ладонные тендосиновииты, артриты мелких суставов кистей, синдром карпального канала. Наиболее часто при HCV регистрируются артралгии (до 52 % больных), миалгии (16-24 %) и ксеростомия (28%). Реже встречается артрит (4%), ксерофтальмия (14%) и синдром Рейно (8 %). Сложности возникают при оценке системности проявлений, в основном лимфаденопатии и гепатомегалии, при наличии HCV-инфекции.

1.4. ДЕТЕКЦИЯ АНТИТЕЛ К ВИРУСУ ГЕПАТИТА С

Среди специфических лабораторных методов диагностики вирусной инфекции в практической ревматологии наибольшее распространение получили серологические тесты, позволяющие выявить в сыворотке крови повышенный уровень специфических антител и, что более важно, нарастание их титра в динамике.

На сегодняшний день основным методом этиологической диагностики вируса гепатита С является обнаружение антител к нему (анти-HCV) путем иммуноферментного анализа (ИФА) [21, 264]. Все использующиеся в настоящее время тест-системы изготовлены на основе рекомбинантных или синтетических полипептидов, несущих антигенные детерминанты белка нуклеокапсида (С-ген) и/или неструктурных белков NS3, NS4 [55, 76] (табл. 1.4).

Таблица 1.4

**Диагностические ИФА-системы
для выявления антител к вирусу гепатита С**

Поколение тест- системы	Антигенные детерминанты нуклеокасида	Белок, содержащий данный фрагмент
1-е	C 100-3, 5-1-1	NS4
2-е	c 100-3, c 22-3, c 33 c	NS4, кор, NS3
3-е	c 100-3, c 22-3, c 33 c, NS5	NS4, кор, NS3, NS5
4-е	c 100-3, c 22-3, c 33 c, NS5, e1, e2	NS4, кор, NS3, NS5, E1, E2

Однако в некоторых случаях антитела к вирусу могут не обнаруживаться, например, при запаздывании иммунного ответа или использовании иммуносупрессивной терапии. Кроме того, возможны ложноположительные результаты. Для их исключения сомнительные сыворотки анализируют в реакции иммуноблотинга (РИБА) или проводят определение РНК [79].

Наличие анти-HCV не позволяет отличить данную инфекцию от предшествующей. В основном определяются общие антитела к HCV, по которым нельзя сказать, острый или хронический гепатит наблюдается в настоящее время. В латентной фазе и фазе клинической активности спектры антител похожи. Антитела к структурному антигену Anti-core-IgM наиболее информативны и служат критерием инфекционности носителя. Титр их максимален в острой фазе и в период реактивации инфекции. Антитела к неструктурным белкам, например HCV NS4, с момента заражения постепенно нарастают до реактивации гепатита С. В дебюте заболевания антитела к этим белкам отсутствуют.

Преодолеть существующие диагностические трудности позволяют методы молекулярной биологии, используемые для выявления нуклеиновых кислот вирусов. Данные методы наиболее адекватно отражают активность вирусной репликации. Все генотипы ВГС имеют в 5'-нетранслируемой области консервативный

участок РНК. Для него разработаны специфические праймеры, что позволяет выявлять РНК вируса гепатита С различных генотипов с помощью полимеразной цепной реакции [15, 62].

ПЦР-диагностика хронического гепатита С очень чувствительна, но в редких случаях дает неточные результаты. В связи с этим определение РНК вируса гепатита С методом полимеразной цепной реакции не должно использоваться в качестве первичного теста для постановки диагноза. Однако данный анализ очень информативен для подтверждения диагноза при сомнительных данных иммунологических тестов, при контроле эффективности специфической противовирусной терапии [3]. Существует определенная динамика антител, позволяющая определить стадию HCV-инфекции. Она отражена в табл. 1.5.

Таблица 1.5

**Клиническая интерпретация
серологических данных при HCV-инфекции**

Клиническая интерпретация	Анти-HCV	РНК-HCV
Ранний период острого гепатита С	.	+
Острый гепатит С, хронический гепатит С с активной репликацией вируса	+	+
Стадия реконвалесценции острого гепатита С	+	.
Серологический статус после выздоровления	+	.

В 1983 г. исследователь К. Mullis из Cetus Corporation (США) открыл принцип *in vitro*-амплификации специфических нуклеотидных последовательностей, за что в 1993 г. был удостоен Нобелевской премии. С 1984 г. коммерчески используется метод полимеразной цепной реакции, позволяющий за несколько часов получить миллионы копий фрагмента. Благодаря ему достигнуты большие успехи в области генетического картирования, молекулярной вирусологии, судебной медицины, в изучении генетического полиморфизма, генетических механизмов молекулярной

иммунологии, в обнаружении мутаций, в диагностике инфекционных и наследственных заболеваний [150].

Метод основан на обнаружении в исследуемом материале специфичных фрагментов ДНК (РНК) различных биологических объектов, их избирательном синтезе и дальнейшей детекции продуктов реакции амплификации. Для ПЦР-метода характерны такие уникальные свойства, как высокая специфичность, чувствительность, универсальность и короткое время исследования. Для амплификации специфического ДНК-фрагмента методом полимеразной цепной реакции не нужно владеть информацией о последовательности нуклеотидов всего фрагмента - достаточно знать нуклеотидную последовательность двух коротких участков, окаймляющих фрагмент-мишень. Это необходимо для синтеза двух олигонуклеотидных праймеров - затравок ДНК-полимеразы. Длина праймеров и их последовательность обязаны быть уникальными и не должны встречаться в других участках ДНК, присутствующих в реакционной смеси. В качестве праймеров используются гексамеры, олиго-dt-праймеры или праймеры, комплементарные интересующему участку РНК-матрицы.

Методика ПЦР-анализа биологических образцов на наличие в них нуклеиновой кислоты состоит из нескольких этапов [26]:

- 1) выделение нуклеиновой кислоты из пробы;
- 2) реакция обратной транскрипции для РНК-ВГС;
- 3) собственно ПЦР и детекция ее продуктов.

В настоящее время для выделения нуклеиновой кислоты используют метод абсорбции на частицы силикогеля после денатурации образца гуанидинизотиоционатом. Для проведения реакции обратной транскрипции часто используют рскомбинантную модифицированную РНК-зависимую ДНК-полимеразу из вируса лейкемии мышей, очищенную до электрофоретической гомогенности методом металл-хелатной хроматографии в буфере для хранения. Оптимальный температурный режим работы фермента °С. После проведения обратной транскрипции полимеразная цепная реакция проводится по обычной схеме.

Исследователи из Roche Molecular Systems (США) разработали комбинированный метод РНК-ПЦР с использованием фермента Tth-полимеразы (выделенного из термофильной бактерии *Thermus thermophilus*). Он обладает полимеразной и выраженной ревертазной активностью, что позволяет проводить реакцию обратной транскрипции и полимеразную цепную реакцию в одной пробирке с участием одного фермента. Однако в данном случае чувствительность анализа может быть ниже, чем при использовании традиционных ферментов [114].

Наряду с общепринятой одностадийной полимеразной цепной реакцией, применяется ряд ее модификаций, направленных на повышение чувствительности реакции, например полимеразная цепная реакция Touchdown. Широко используется двустадийная полимеразная цепная реакция с внутренней парой праймеров (nested-PCR), что резко увеличивает ее чувствительность. Нот-старт полимеразной цепной реакции предполагает, что во время подготовки ПЦР-образца (до начала стадии денатурации) в подготовленной смеси происходит образование неспецифических димеров праймер-матрицы и их амплификация.

Основным достоинством метода полимеразной цепной реакции является чрезвычайно высокая чувствительность анализа - до одной копии геномной ДНК возбудителя инфекции в исследуемой пробе при nested-варианте полимеразной цепной реакции (с внутренней и внешней парами олигонуклеотидов-праймеров).

С одной стороны, возможности, заложенные в методе полимеразной цепной реакции, позволяют достигать максимальной специфичности анализа (т. е. отсутствия перекрестных реакций и способности выявлять ДНК конкретного инфекционного агента в присутствии ДНК других микроорганизмов и ДНК организма-хозяина), а также проводить генотипирование. С другой стороны, соответствующий выбор олигонуклеотидов-праймеров, в основном определяющих специфичность анализа, позволяет одновременно выявлять ДНК близкородственных микроорганизмов.

Другим достоинством метода является то, что для ПЦР-диагностики практически всех инфекционных заболеваний может быть использован один набор оборудования, универсальные процедуры подготовки пробы и проведения анализа, а также незначительно отличающиеся наборы реактивов [31].

Последовательность применения тест-систем для идентификации вируса гепатита С приведена в табл. 1.6.

Таблица 1.6

Последовательность использования тест-систем при верификации HCV-инфекции [492]

Тест-система	Назначение и оценка результатов тестирования
ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)	Назначается при подозрении на HCV-инфекцию. При отрицательном результате HCV сомнителен. При положительном результате проводится RIBA или сразу RT/PCR.
RT/PCR (reverse transcriptase/polymerase chain reaction)	При положительном результате подтверждается гепатит С. При отрицательном результате проводится повторное тестирование - 3 раза в течение 6-12 месяцев. При сохранении отрицательных результатов HCV-инфекция исключается.

Вместе с тем рекомбинации РНК и изменение нуклеотидной последовательности могут происходить даже у одного пациента, и с этим связаны трудности диагностики хронического гепатита С [129, 245]. Остается актуальным вопрос о применении различных методов верификации вирусоносительства, в том числе с использованием аппаратуры, работа которой основана на измерении электрофизиологических свойств крови. Сохраняется также потребность в разработке способов идентификации вируса гепатита С в различных биологических средах.

1.5. ТЕРАПИЯ HCV-ИНФЕКЦИИ НА ФОНЕ РЕВМАТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ

1.5.1. Тактика терапии

Основным методом лечения HCV-инфекции считается использование α -интерферона. Интерферонотерапия может приводить не только к улучшению состояния печени, но и к ослаблению внепеченочных проявлений инфекции, в частности, ревматической симптоматики, нефрита, криоглобулинемии [200]. В литературе описаны попытки лечения интерфероном и других заболеваний, предположительно ассоциированных с HCV-инфекцией, показана эффективность α -интерферона в отношении ксеростомии при первичном синдроме Шеллена без ХГС [140]. В тоже время единственным показанием к лечению α -интерфероном можно считать пока только смешанную криоглобулинемию [166, 267].

Существующие интерфероны представляют собой группу низкомолекулярных пептидов, которые подразделяют на типы в зависимости от различной биологической активности, α -интерферон продуцируется В-лимфоцитами и клетками макрофагально-фагоцитарной системы. β -интерферон синтезируется фибробластами, γ -интерферон - лимфоцитами. У α - и β -интерферонов более выражен противовирусный эффект, в то время как у γ -интерферонов - иммуномодуляторный. Внутри класса α -интерферонов в зависимости от их аминокислотного состава выделяется по крайней мере 20 различных подклассов. Среди них наиболее важный по биологическим свойствам - α_2 -интерферон [181].

Препараты интерферона для парентерального введения производятся методом выделения и очистки естественных интерферонов (лейкинферон, велферон, ферон и др.) и рекомбинантным путем (интрон А, реаферон, реальдирон, геберон и др.). Предпочтение отдается рекомбинантным препаратам, поскольку в естественных

содержится значительное количество примесей Р- и у-интерферонов, а также других интерлейкинов, что не всегда желательно. В тоже время некоторые авторы не выявляют различий в терапевтической эффективности нативного и рекомбинантного интерферонов [14, 187].

Всем больным для уточнения характера патологического процесса до начала лечения проводится биопсия печени [10], биохимическое исследование крови с определением аминотрансфераз (АЛТ/АСТ), серотипирование HCV, исследование функции щитовидной железы, а также анализ крови на анти-HCV и HCV-RNA [162].

Лечение интерферонами имеет ряд недостатков: серьезный дискомфорт для пациента, создаваемый инъекционной формой введения при длительных курсах лечения; высокая стоимость препарата; большой процент рецидивов заболевания после отмены терапии и резистентность к препарату; выраженные побочные эффекты от гриппоподобного синдрома до гематологических и аутоиммунных проявлений. Наиболее часто среди побочных эффектов встречаются пирогенные реакции, миалгии; отмечены случаи развития алопеции и депрессивных состояний [206, 210, 243].

Подострые (ранние) побочные эффекты возникают при первых инъекциях интерферонов. Это - повышение температуры, озноб, головная боль, слабость, миалгии. Симптомы возникают спустя 4-6 ч после введения препарата и продолжаются 6-12 ч. Исчезают они обычно после 2-3-недельного лечения. Степень развития гриппоподобного синдрома возрастает с увеличением дозы интерферона. Симптомы значительно уменьшаются при назначении нестероидных противовоспалительных препаратов. Часто к концу первой недели отмечается повышение уровня аминотрансфераз. При плохой переносимости интерферонов допустимо начинать лечение с уменьшенной наполовину дозы, постепенно увеличивая ее в течение двух-трех недель до оптимальной величины.

Хронические (поздние) побочные эффекты проявляются в виде повышенной утомляемости, головной боли, миалгии, потери

аппетита, снижения массы тела, выпадения волос, раздражительности. Самая распространенная их причина - неврологическая токсичность (усталость, астения, поведенческие отклонения). Такие симптомы могут серьезно ухудшить качество жизни и привести к остановке лечения [87, 177, 233].

Аутоиммунные побочные синдромы связаны с выработкой антинуклеарных антител, по клиническим проявлениям напоминающих аутоиммунный тиреоидит, системную красную волчанку, васкулит [59]. Довольно много - 25 % - пациентов не реагируют на лечение интерферонами, 25 % частично реагируют, но снова заболевают, как только терапия прекращается, и 50 % реагируют положительно. Даже при успешной интерферонотерапии возможность рецидива составляет 30 % в течение трех лет [81].

Интерферонотерапия хронического гепатита С не всеми клиницистами рассматривается как положительный момент. В качестве ее альтернативы предлагают комплексную терапию с включением гептрала, урсофалька и витамина Е.

В целом конечная цель интерферонотерапии - элиминировать или супрессировать вирус и таким образом способствовать ремиссии, уменьшить инфицированность больного, предотвратить или ослабить фиброгенез, а также снизить риск развития гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК). В литературе имеются очень противоречивые данные о показаниях и противопоказаниях к терапии интерферонами, о ее эффективности, о разовых и курсовых дозах, о побочных эффектах, а также о факторах, влияющих на успех такого лечения и его отягощающих [68, 105, 110, 131, 268].

Таким образом, в настоящее время применяется следующая тактика терапии при хроническом гепатите С:

- 1) выжидательная тактика (активное наблюдение);
- 2) назначение интерферонотерапии по стандартным схемам;
- 3) пульс-терапия интерфероном;
- 4) гормонотерапия (применение глюкокортикостероидов) с последующей быстрой отменой для индуцирования синдрома отмены, что стимулирует выработку собственных интерферонов;

- 5) одновременное назначение интерферона с рибавирином;
- 6) только рибавирин (1000 и 1200 мг/сут в течение 12 недель);
- 7) кортикостероиды в комбинации с рибавирином;
- 8) альтернатива - гептрал, урсофальк, витамин Е.

1.5.2. Проблемы терапии

При ревматоидном артрите на фоне поражений печени возможно снижение продукции антител в печени и более медленный метаболизм препаратов, что в конечном итоге приводит к более доброкачественному течению полиартрита без развития анкилозов.

Если у пациентов с HCV-инфекцией без ревматической патологии схемы применения интерферонов отработаны и подход к лечению унифицирован, то лечение больных с сопутствующей патологией требует особого подхода, включающего выработку специальной тактики интерферонотерапии [99]. Этот очень важный принцип индивидуализации лечения помогает просчитать соотношение целесообразность-безопасность и избежать необоснованной терапии и связанных с ней осложнений у больного с хроническим гепатитом С и ревматическим заболеванием [85, 120, 123]. В связи с этим важно убедиться в том, что терапия интерфероном у данного пациента действительно обоснована (имеет место репликация вируса гепатита С, стойкое или волнообразное повышение активности АЛТ в сочетании с умеренной или выраженной активностью гепатита по данным морфологического исследования печени). При определении показаний к лечению интерфероном пациента с хроническим гепатитом С и системным заболеванием соединительной ткани очень важно выявить, какая патология является ведущей. Решающим критерием при этом может служить темп прогрессирования одного из заболеваний. В большинстве случаев следует воздержаться от терапии интерферонами из-за риска развития осложнений, которые могут в свою очередь увеличить темп прогрессии системного заболевания соединительной ткани [136].

Постановка диагноза «ревматоидный артрит», уточнение характера поражения суставов являются основой для выработки принципов лечения. Наличие ревматоидного артрита с системными проявлениями и высокой активностью служит показанием к назначению цитостатиков. В тоже время практически все цитостатики оказывают гепатотоксическое действие и способствуют вирусемии. Однако назначение комбинированной терапии, включающей цитостатик, глюкокортикостероиды, гепатопротектор, способно контролировать течение ревматоидного артрита на фоне сопутствующей патологии. Совершенно не разрешен вопрос о включении в данную схему различных интерферонов из-за их высокой стоимости.

При сочетанной патологии в настоящее время из медикаментозной терапии, как правило, исключают цитостатики, хотя есть пациенты успешно принимающие метотрексат на фоне ревматоидного артрита и гепатита С [203, 248, 258].

После интерферонотерапии часто наблюдаются обострения внепеченочных проявлений HCV-инфекции [132]. Оказалось, что лечение интерфероном само по себе может вызывать аутоиммунные реакции как со стороны печени, так и внепеченочные. В частности, у 5-13 % больных с HCV-инфекцией на фоне интерферонотерапии впервые регистрировалась транзиторная циркуляция различных аутоантител. Среди них определялись антитиреоидные антитела с клиникой гипотиреоза. В связи с лечением интерфероном часто рецидивирует и аутоиммунная тромбоцитопения, ассоциированная с HCV-инфекцией [235].

Поскольку интерферонотерапия не является urgentной, каждый пациент должен быть тщательно обследован. При рассмотрении вопроса о назначении больным с анти-HCV-антителами этиотропного лечения необходимо принимать во внимание свойственные HCV-инфекции аутоиммунные нарушения, которые могут нарастать на фоне лечения интерфероном, вести к утяжелению течения и прогноза ревматических заболеваний [99].

Изучение терапии противовирусными препаратами в настоящее время находится на стадии накопления клинического опы-

та [274]. Лечение, особенно препаратами интерферона, следует назначать строго индивидуально, желательно в рамках протокола клинических испытаний, обеспечивающего безопасность терапии. При выраженной клинической и лабораторной картине аутоиммунного заболевания предпочтение в начале лечения следует отдать преднизолонотерапии [70, 217, 250].

Опыт наблюдения пациентов с HCV-инфекцией и связанными с ней ревматическими заболеваниями ограничен, и решение о лечении остается спорным [38]. Кортикостероидная терапия является одной из ведущих тем дискуссии. Если глюкокортикостероиды даются больному без проведения курса противовирусной терапии, инфекция может усиливаться. Уровень вирусемии повышается после кратковременного приема кортикостероидных веществ, но вскоре возвращается к норме. [67]. Прием кортикостероидов не ухудшает клиническую симптоматику гепатита [102, 230]. Кратковременное применение ГКС в низких дозах для купирования острых ревматических симптомов оказывается приемлемым [65, 113, 118, 237].

В целом основное направление в лечении артритов у пациентов с HCV-инфекцией еще не выработано [123]. Как указывалось в отчетах, могут быть эффективными гидроксихлороквин и низкие дозы глюкокортикостероидов орально. Наличие ревматоидного артрита с системными проявлениями и высокой активностью служит показанием к назначению цитостатиков. В тоже время практически все цитостатики оказывают гепатотоксическое действие и способствуют вирусемии. Однако метотрексат может использоваться с хорошим клиническим эффектом и умеренным подъемом аминотрансфераз в сыворотке.

При анализе переносимости некоторых базисных препаратов больными ревматоидным артритом, инфицированными вирусами гепатита, оказалось, что метотрексат отменялся у 57,1 % в связи с повышением у них уровня печеночных ферментов, что достоверно чаще, чем у пациентов с ревматоидным артритом без вирусной инфекции. Единичные случаи отмены аминохинолиновых препара-

тов, сульфасалазина, препаратов золота свидетельствуют о лучшей их переносимости больными ревматоидным артритом с хроническими вирусными гепатитами В и С [11].

В части случаев некоторые аутоиммунные нарушения у больных хроническими заболеваниями печени могут быть устранены назначением урсофалька, адеметионина, циклоферона [134]. Потенциальная гепатотоксичность нестероидных противовоспалительных препаратов может быть препятствием для их назначения пациентам с HCV-инфекцией [95, 108, 218, 239, 254].

В настоящее время считается оправданной тактика динамического наблюдения за естественным течением вирусного гепатита С при аутоиммунной патологии. Хорошие результаты получены при использовании методов экстракорпоральной детоксикации [48, 56], особенно прерывистого плазмафереза, который применялся в основной группе больных ревматоидным артритом в нашем исследовании.

В литературе нет единого мнения о целесообразности этиотропного лечения больных HCV с выраженным аутоиммунным компонентом [13]. Некоторые исследователи считают, что наличие ANA, а также органных поражений, опосредованных аутоиммунными реакциями, не является противопоказанием к лечению интерферонами. По данным М.Р.Маннс [195], наличие LKM является неблагоприятным фактором, свидетельствующим о возможном обострении HCV на фоне интерферонотерапии. С современных позиций такая терапия не является базисной при сочетанной патологии [207].

Для выбора метода лечения HCV-инфекции при ревматических заболеваниях с помощью интерферонов и комбинированными препаратами важно наличие следующих факторов: преимущественно 2-й или 3-й генотип вируса гепатита С; репликативная активность вируса с оптимумом менее $2 \cdot 10^6$ копий/мл; отсутствие фиброза, ступенчатых некрозов в данных биопсии; молодой возраст пациента; восточная раса (или брюнететы); женский пол и отрицательный тест на беременность; низкие уровни гаммаглобулинов и IgG;

низкие титры ANA, LKM, SMA; нормальная функция щитовидной железы и длительность HCV до трех лет [154].

Поиски более эффективной этиотропной терапии привели к изучению частоты выздоровления и ремиссий у больных с HCV при использовании комбинаций препаратов: интерферона а-2б с N-ацетилцистеином, антагонистами железа и препаратами вилочковой железы, GM-CSF, ИЛ-12 [32, 262].

В настоящее время проходят клинические испытания эффективности и безопасности этиотропной терапии хронического гепатита С у лиц с аутоиммунными нарушениями, с тяжелыми сопутствующими заболеваниями, с микст-гепатитами и у ВИЧ-инфицированных. Испытываются препараты, не утвержденные для лечения хронического гепатита С (иммуномодуляторы и биодобавки) [109].

Проводятся попытки лечения HCV-инфекции при ревматической патологии гидроксихлороквином и низкими дозами глюкокортикостероидов; урсодезоксихолевой кислотой; индукторами эндогенного интерферона - омексином и циклофероном; противовирусными средствами - антисенсолигонуклеотидами, рибозимами, фосфаглифом, мефлоглифом, глициризином, СН-100; ингибиторами энзимов репликации HCV (проксимальными каспазами) - геликазой, РНК-полимеразой; цитокинами (ИЛ-10, ИЛ-12); методами генной терапии, включающими пересадку генноизмененных структур, способных производить свой собственный интерферон в печеночной ткани.

1.6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Этиологическая связь ревматических заболеваний с вирусной инфекцией обсуждалась в литературе на протяжении многих лет и сохраняет свою актуальность в настоящее время. Прогресс в достижении эффективности терапии при сочетанной патологии напрямую связан с изучением распространенности вируса гепатита

С, его тропности к печеночной, почечной и лимфоидной тканям у больных ревматическими заболеваниями, а также с оценкой клинико-лабораторных и морфологических симптомов поражения макроорганизма.

В связи со сложной эпидемиологической ситуацией вследствие распространенности вирусных гепатитов, прежде всего хронического гепатита С, существенно возрастает риск инфицирования вирусами гепатита больных с ревматической патологией, сопровождающейся иммуносупрессией как в рамках основного заболевания, так и на фоне проводимой терапии. Наличие общих звеньев патогенеза у ревматических заболеваний и вирусных поражений диктует необходимость создания новых методов дифференциальной диагностики ревматической патологии и идентификации вируса гепатита С, в том числе по исследованию электретных свойств сыворотки крови.

Распространенность вирусов гепатита В и С в популяции, а также у больных с ревматическими заболеваниями из проблемы медицинской перерастает в проблему социальную и имеет высокую практическую значимость, что позволяет надеяться на ее дальнейшее исследование.

Для достижения успехов в изучении проблемы необходимо внедрение методов молекулярной диагностики вируса гепатита С в биоптатах печени и создание банка данных морфологических исследований больных ревматическими заболеваниями.

ГЛАВА II

ПУНКЦИОННАЯ БИОПСИЯ ПЕЧЕНИ

Репозиторий БГМУ

Морфологическое исследование биоптатов занимает в современной гепатологии особое место при диагностике хронических заболеваний печени. Общим показанием к пункционной биопсии печени (ПБП) является невозможность постановки диагноза с помощью других методов [53]. Интерпретация данных биопсии является важной составной частью диагностического процесса при системных заболеваниях соединительной ткани, протекающих с поражением печени, а также при диффузных заболеваниях печени.

Первые проколы печени были проведены Биэтом (Biett) и Стенли (Stanley) в 1833 г. при эхинококке. В обоих случаях пункция предшествовала оперативному вмешательству и исходы были благоприятными. В 1878 г. Гаммонд (Hammond) делал проколы при абсцессах печени.

В 1895 г. Лукателло (Lucatello) на терапевтическом конгрессе в Риме сделал сообщение о диагностическом значении пункции печени тонкой иглой. В мазках он обнаруживал отдельные печеночные клетки и их скопления.

Результаты серийных биопсий с целью диагностики цирроза и опухолей печени впервые опубликованы в 1907 г. Шупфером во Франции.

Однако метод не получил распространения вплоть до 30-х гг., когда Хьюар с сотрудниками во Франции и Барон в США стали применять биопсию печени с общедиagnostическими целями.

В настоящее время почти каждый молодой врач в течение короткого учебного курса под наблюдением опытных специалистов осваивает технику пункционной биопсии печени. Претерпели изменения показания к биопсии, ее техника, улучшилось распознавание осложнений и снизился связанный с ней риск.

2.1. ВИДЫ БИОПСИЙ ПЕЧЕНИ

Существует несколько видов биопсий: 1) открытые (краевые), во время операций; 2) чрескожные (пункционные); 3) прицельные (во время лапароскопии); 4) трансъюгулярные (трансвенозные).

Открытая биопсия используется хирургами при лапаротомиях или других оперативных вмешательствах. Однако во время операции материал берут из нижнего края печени, где гистологическая картина может быть нормальной даже при циррозе. Субкапсулярные участки могут содержать избыточное количество фиброзной ткани, не соответствующее ее содержанию в других отделах печени.

Чрескожная (слепая) биопсия, выполняемая с помощью специальных игл, технически наиболее проста. Ее значение в распознавании наиболее важных для клиники диффузных поражений печени (хронического гепатита, жирового гепатоза, гемохроматоза, амилоидоза) трудно переоценить. В настоящее время в связи с широким внедрением в практику лечебных учреждений методов ультразвуковой диагностики производится уточнение точки введения пункционной иглы при помощи аппаратов УЗ-диагностики.

Это позволяет уменьшить число осложнений во время проведения манипуляции.

Прицельная биопсия. Очаг поражения распознают с помощью визуализационных методов исследования — УЗИ, компьютерной томографии, ангиографии — и пунктируют его иглой типа «Тгисит». Больным с нарушениями свертывания крови после извлечения из канюли иглы со столбиком ткани с целью пломбировки пункционного канала вводят желатиновую пену, что предотвращает риск развития кровотечения. Более высокий процент положительных результатов с помощью прицельной биопсии печени удается получить чаще, чем при слепой чрескожной биопсии. Точность диагностики хронических заболеваний печени по результатам этих двух видов биопсии составляет 95 и 81 % соответственно.

Трансъюгулярная биопсия печени. Специальную иглу «Тгисит» помещают в катетер, который проводят через яремную вену в печеночную вену. Затем иглу вводят в ткань печени, прокалывая стенку печеночной вены.

Данная техника биопсии показана при нарушениях свертывания крови, массивном асците, малых размерах печени или отсутствии контакта с больным, а также при фульминантной печеночной недостаточности для определения прогноза и необходимости трансплантации печени. Преимущество метода состоит в возможности одновременного измерения свободного венозного давления и давления заклинивания в печеночных венах. Процедура может быть проведена, если попытки чрескожной биопсии оказались неудачными.

Лапароскопическая биопсия печени под непосредственным визуальным лапароскопическим контролем, безусловно, сложнее, чем слепая биопсия. Она требует предварительного наложения пневмоперитонеума и введения лапароскопа через другой прокол. Преимущество этого метода состоит в более точной диагностике очаговых поражений печени, таких как гемангиомы, паразитарные кисты, абсцессы, метастатические опухоли, при которых слепая

биопсия может дать ложноотрицательные результаты, а также в ряде случаев при дифференциальной диагностике хронического гепатита и цирроза.

Чрескожные пункционные биопсии печени (ПБП) применяют наиболее часто. Они безопасны, осложнения (кровотечения, пневмоторакс, желчный перитонит) встречаются крайне редко: их процент, как правило, не превышает 0,015 % [10]. Данный вид биопсий допустим к применению в условиях поликлиник.

Биопсия печени позволяет установить:

1) диагноз (и исключить группу заболеваний, имеющих сходную клиническую картину, путем дифференциальной морфологической диагностики);

2) активность процесса в печени (с помощью индекса гистологической активности);

3) степень хронизации процесса в печени (с помощью индекса степени фиброза);

4) эффективность терапии и прогноз заболевания.

Практически пункция может быть проведена после трех недель безуспешной диагностики. Большое значение придается ПБП при увеличении печени неясной этиологии. Исследование пунктатов в подобных случаях может оказаться единственно возможным и наиболее достоверным методом диагностики.

2.2. ПОКАЗАНИЯ К ПУНКЦИОННОЙ БИОПСИИ

Перечень показаний к пункционной биопсии печени по Ш.Шерлок [53]:

1) лихорадка неясного происхождения;

2) неясные заболевания, сопровождающиеся желтухой;

3) подозрения на метастазы опухоли в печени, на гранулематозное заболевание (туберкулез, саркоидоз);

4) неясные заболевания кроветворной системы (ретикулоэндотелиозы и алейкемические формы лейкозов);

- 5) подозрение на портальный цирроз при нехарактерной клинической картине;
- 6) спленомегалия неясного происхождения;
- 7) последствия вирусного гепатита на фоне системных заболеваний соединительной ткани;
- 8) установление активности, тяжести течения и формы поражения печени;
- 9) диагностика системных заболеваний с поражением печени;
- 10) оценка эффективности лечения;
- 11) выявление морфологического субстрата измененных функциональных проб;
- 12) амилоидоз, жировая инфильтрация печени, гемохроматоз, липоидоз.

2.3. ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПУНКЦИОННОЙ БИОПСИИ ПЕЧЕНИ

Перечень *абсолютных противопоказаний* к пункционной биопсии печени:

- 1) склонность к кровотечениям;
- 2) беспокойное, тяжелое, коматозное и неоперабельное состояние пациента;
- 3) нагноительные процессы в печени и соседних органах, эхинококк печени;
- 4) длительная механическая желтуха;
- 5) отсутствие необходимых условий для проведения пункции (эмфизема, заболевания нижней доли правого легкого или правой плевральной полости при межреберной биопсии);
- 6) множественные гемангиомы печени, застойная печень при сердечной недостаточности, перикардите или тромбозе печеночной вены.

Относительными противопоказаниями являются:

- 1) асцит;
- 2) метастазы опухоли в печень;

- 3) сопутствующие заболевания, повышающие опасность осложнений;
- 4) отрицательное отношение больного к пункции.

2.4. ОБОРУДОВАНИЕ, НЕОБХОДИМОЕ ДЛЯ ПУНКЦИОННОЙ БИОПСИИ

1. Ультразвуковой сканер (например, Aloka 630) с конвексным или линейным датчиком, адаптированным к проведению пункционной биопсии (рис. 2.1);

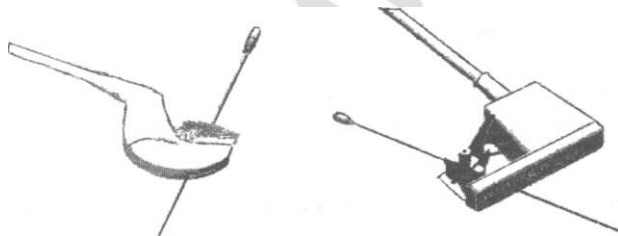


Рис. 2.1. Адаптированные к пункционной биопсии УЗ-датчики

2. Пункционные иглы. В диагностической практике врачей-гастроэнтерологов и инфекционистов республики наиболее широкое применение нашли одноразовые наборы «Нераfix», «Нера-IVI» для аспирационной биопсии и специальные одноразовые биопсийные иглы зарубежных фирм «Sterylab» (Италия) и «Monoject» для режущей биопсии (рис. 2.2).

Среди игл различных систем (Iversen, Vim Silverman, Menghini и др.) особого внимания заслуживает игла типа Менгини, входящая в комплект Нераfix (рис. 2.3). Для надежного забора пробы при пункционной биопсии печени предусмотрен внутренний блокирующий механизм. Эхогенный наконечник обеспечивает точность наведения иглы под контролем ультразвука. Передвижной ограничитель служит для точного размещения иглы по глубине.

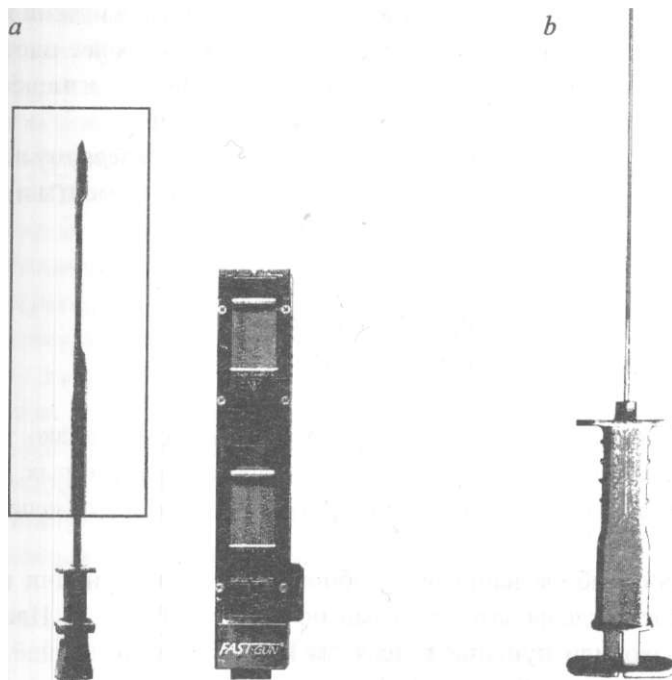


Рис. 2.2. Биопсийный набор для автоматической режущей трианбиопсии печени фирмы «Sterylab» (а) и биопсийный набор для полуавтоматической режущей трепанбиопсии печени фирмы «Monoject» (b)

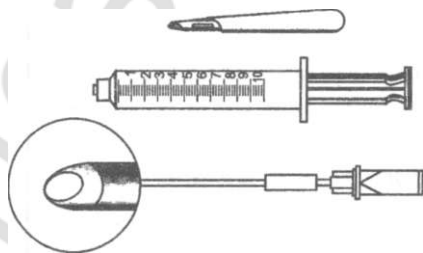


Рис. 2.3. Набор Nerafix с иглой Менгини

Однако основным недостатком биопсии данными иглами является невозможность в некоторых случаях извлечь более плотную соединительную ткань, особенно при цирротически измененной печени, поскольку в основе метода лежит аспирация.

Для получения пунктатов, доступных гистологическому исследованию, применяют различные специальные инструменты и иглы с диаметром от 12 до 18 мм (см. рис. 2.3).

2.5. МЕТОДИКИ ЧРЕСКОЖНОЙ ПУНКЦИОННОЙ БИОПСИИ

Пунктировать печень можно в разных местах, однако топографическая близость ряда органов, повреждение которых является нежелательным или опасным, ограничивает места «слепой» пункции.

Вопрос выбора наиболее удобного места для пункции печени решался отдельными авторами по-разному. Рогольм, Иверсен и др. проводили пункции в девятом межреберье по задней подмышечной линии; Барон и Гофбауэр пунктировали печень через переднюю брюшную стенку ниже реберной дуги; братья Джильмен - между мечевидным отростком и правой реберной дугой с направлением иглы вверх и влево. Соответственно, различают латеральный интеркостальный, передний субкостальный и медиальный методы пункций.

Латеральный метод применяется наиболее часто, так как в этом случае границы печени определяются четко, а дыхательные движения пациента наименее выражены. Кроме того, в зоне пункции нет крупных кровеносных сосудов, желчных ходов и граничащих с печенью внутренних органов брюшной полости.

Передний субкостальный метод пункции применяется только при увеличенной, доступной пальпации печени. Им уместно пользоваться в случаях, когда в печени прощупываются узлы, представляющие интерес для биопсии, при воспалительном про-

цессе в правой плевральной полости, при узких межреберных промежутках (применение в данной ситуации интеркостального метода создает опасность повреждения межреберной артерии), а также при пункции печени у маленьких детей, не способных задерживать дыхание. Передний субкостальный метод, как и предыдущий, не безопасен из-за возможных надрывов печени при дыхательных движениях и повреждений желчного пузыря.

Медиальная пункция через реберно-мечевидный угол позволяет получать ткань из левой доли печени. При этом методе меньше вероятность повреждения крупных сосудов и надрыва ткани печени при дыхании. Тем не менее, он не получил широкого применения из-за того, что в зоне между мечевидным отростком и правой реберной дугой трудно определить границы печени.

Техника пункции в зависимости от применения того или иного вида инструмента в деталях может быть различной, хотя принцип ее проведения остается единым для всех вариантов.

2.6. ОТБОР И ПОДГОТОВКА БОЛЬНЫХ

Для выполнения биопсии печени больных обычно госпитализируют. В амбулаторных условиях ее проводят только при отсутствии желтухи или таких признаков декомпенсации, как асцит или энцефалопатия.

Не следует проводить биопсию амбулаторно больным с циррозом или опухолями печени. Согласно рекомендациям Американской гастроэнтерологической ассоциации, врачам следует самим решать вопрос, осуществлять биопсию в амбулаторных или стационарных условиях.

После того, как получены достоверные сведения о наличии у больного показаний и отсутствии у него противопоказаний к пункции, он должен быть к ней подготовлен. С пациентом проводят разъяснительную беседу и берут его письменное разрешение на процедуру.

В дневник истории болезни или амбулаторную карту больного накануне пункционной биопсии печени обязательно вносят обоснование необходимости данной манипуляции.

Перед пункцией всем больным производится физическое и рентгеноскопическое исследование легких, особенно правого, для выявления высоты стояния и подвижности диафрагмы, состояния правого поддиафрагмального синуса. Перед биопсией следует проводить ультразвуковое исследование (УЗИ) с целью уточнения места введения пункционной иглы, а также определения размеров печени, расположения желчного пузыря, крупных сосудов и анатомических отклонений.

2.7. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕДУРЫ И МЕРОПРИЯТИЯ, ПРОВОДИМЫЕ ПЕРЕД ПУНКЦИЕЙ

Перечень диагностических процедур и мероприятий, проводимых перед пункционной биопсией печени, включает:

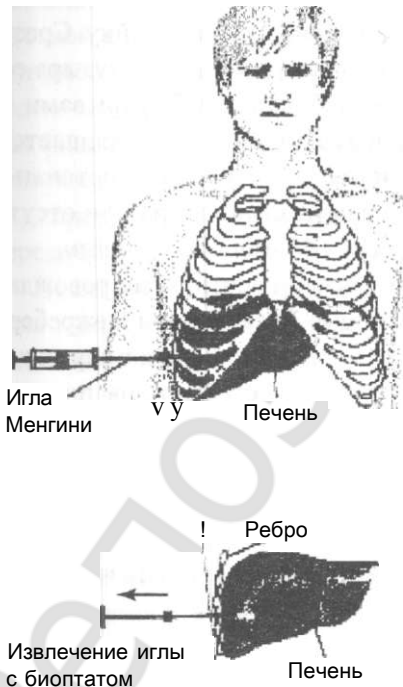
- 1) общий анализ крови, включая определение уровня тромбоцитов ($> 100\ 000/\text{л}$);
- 2) определение времени кровотечения и свертываемости;
- 3) определение протромбинового индекса;
- 4) определение группы крови и резус-принадлежности;
- 5) УЗИ печени;
- 6) получение письменного согласия пациента на пункционную биопсию печени;
- 7) прекращение приема аспирина и других нестероидных противовоспалительных препаратов;
- 8) проверку способности больного задерживать дыхание и инструктирование его о том, что он должен будет по команде в момент пункции после нескольких усиленных дыхательных движений задержать дыхание на глубоком выдохе (в случае межреберной пункции) или на вдохе (при пункции через брюшную стенку). Помимо

объяснения, с больным целесообразно провести практические упражнения.

2.8. ТЕХНИКА ВЫПОЛНЕНИЯ ПУНКЦИОННОЙ БИОПСИИ ПЕЧЕНИ

Пункционная биопсия печени выполняется двумя методами: 1) слепым чрескожным методом по Менгини; 2) чрескожным пункционным методом трепанбиопсии печени под постоянным ультразвуковым контролем.

2.8.1. Пункционная биопсия по Менгини (Menghini)



Пункционная биопсия «слепым» методом иглами типа Менгини осуществляется после предварительного ультразвукового исследования места предполагаемой пункции (рис. 2.4).

Перед пункцией всех больных подготавливают по общей методике. Пациента укладывают на спину в свободной позе. Прокол печени обычно делают в девятом или десятом межреберье справа между передней и средней подмышечной

Рис. 2.4. Методика пункционной биопсии по Менгини

линией, в месте наибольшей печеночной тупости. Перед проколом кожу обрабатывают настойкой йода и спиртом, после чего проводят анестезию 2%-ным раствором новокаина (5-7 мл) сначала внутривенно, затем глубже, обезболивая плевру и капсулу печени. Спустя 1-3 мин стилетом прокалывают кожу на глубину 2-4 мм. Затем через намеченное место прокола в межреберье вводят иглу *строго перпендикулярно к поверхности ребра*. Иглу соединяют с 10-миллиметровым шприцем, содержащим 4-6 мл изотонического раствора хлорида натрия. Достигнув капсулы печени, выпускают 2 мл содержимого шприца, чтобы вытолкнуть из иглы кусочки жировой клетчатки. После этого поршень отводят для получения аспирации, и шприц оставляют в таком положении до окончания пункции. Иглу вводят в паренхиму печени во время задержки больным дыхания, и быстро ее вынимают. Во время всей манипуляции *направление иглы не изменяется*. На место прокола накладывают стерильную наклейку. Сразу после пункции на область правого подреберья кладут пузырь со льдом, который больной держит с небольшими перерывами в течение 2 ч. Через 2 ч после процедуры пациенту разрешается принимать не горячую пищу, в течение 24 ч он должен оставаться в постели. Он может быть выписан из стационара при отсутствии осложнений не ранее, чем через 48 ч после пункции.

У большинства больных пункция печени почти не сопровождается болевыми ощущениями. Некоторые больные при межреберной пункции в течение ближайших 15-20 мин отмечают нерезкую болезненность при глубоком дыхании в месте прокола плевры. Иногда наблюдается иррадиация болевых ощущений по диафрагмальному нерву в правое плечо и правую половину шеи. Кровяное давление и пульс, как правило, не изменяются. У отдельных больных в первое время после пункции иногда наблюдается незначительное снижение артериального давления, но оно не бывает продолжительным.

2.8.2. Чрескожная пункционная трепанбиопсия

Данная методика позволяет получить столбик ткани для гистологического исследования, что важно прежде всего в диагностике диффузной патологии печени. Трепаны (см. рис. 2.3) представляют собой иглы для режущей биопсии со специальными проточенными выемками и особыми углами заточки, имеющие диаметр 17 G (1,6 мм) и более. «Слепая» пункция такими иглами нежелательна в связи с высоким риском осложнений. Визуализация в режиме реального времени с использованием доплерографии позволяет избирать безопасную траекторию пункционного канала.

Трепанбиопсия печени выполняется иглой диаметром 16 G и длиной 150 мм, что позволяет получить материал, полностью соответствующий международным гистологическим стандартам. Биопсия при диффузных поражениях печени выполняется под местной анестезией с использованием при необходимости нейролептанестезии под непрерывным ультразвуковым контролем методом свободной руки. Это позволяет использовать вторую руку для фиксирования положения пациента или для манипулирования ультразвуковым датчиком. Место пункции (V-VII сегменты печени) определяется под контролем УЗИ в VIII-X межреберье между передней и средней подмышечными линиями (рис. 2.5).

После уточнения места прокола и подготовки операционного поля анестезируют новокаином кожу и более глубокие слои тканей, предлежащие печени. При межреберной пункции анестезируют плевру и диафрагму. Чтобы облегчить прохождение пункционного инструмента через кожу, на ней концом скальпеля делается небольшая насечка. Техника биопсии аналогична методу по Менгини.

Следует упомянуть о том, что в исследовании и проведении малоинвазивных вмешательств при очаговых процессах в печени (опухоли, кисте, абсцессе) существует отдельное направление - **тонкоигольная аспирационная биопсия**. Данная методика дает возможность доступа к зоне интереса через полые

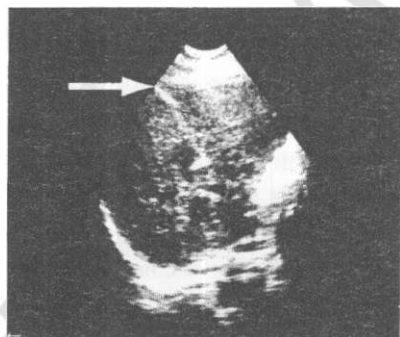
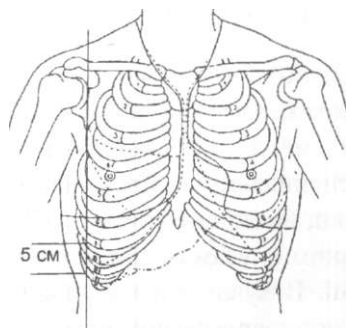


Рис. 2.5. Локализация места пункции в зоне интереса (слева).
Игла в паренхиме печени (показана стрелкой)

и паренхиматозные органы. Биопсия иглами диаметром меньше 1 мм (20-24 G) мотивируется сниженной ее травматичностью и малой вероятностью возникновения осложнений (геморрагии, перитонита). Полноценное использование подобных игл производится только в режиме непрерывного ультразвукового контроля. Тонкие иглы легко гнутся при соприкосновении с жесткими структурами (апоневроз, рубцовая ткань, кальцификаты), поэтому траектория пункционного канала может значительно отличаться от рассчитанной. Метод тонкоигольной аспирационной биопсии печени выполняется исключительно хирургами. Получаемый биопсийный материал пригоден только для цитологического исследования.

2.9. НАБЛЮДЕНИЕ ПОСЛЕ ПУНКЦИОННОЙ БИОПСИИ

В продолжение суток после биопсии печени больному важно соблюдать постельный режим. В первые 12 ч ему нужно воздерживаться от приема горячей пищи и в течение 1-2 ч обеспечить местную гипотермию в области пункции.

В связи с тем, что на протяжении первых 24 ч после прокола возможно внутреннее кровотечение, контроль пульса и кровяного давления в этот период является обязательным. В течение 2 ч после процедуры они должны измеряться каждые 30 мин, а затем ежедневно.

Через 2-11 и 10-12 ч после биопсии проводят лабораторный контроль показателей красной крови. Кровотечение наиболее вероятно в первые 3-4 ч.

На следующий день после процедуры проводят ультразвуковой контроль зоны биопсии.

При необходимости выполняют также контрольное рентгенологическое исследование грудной клетки в области пункции, если доступ осуществлялся через плевральный синус.

После биопсии в течение суток за пациентами необходимо установить очень тщательное наблюдение. Госпитализированных больных врач осматривает через 4 и 8 ч после процедуры. Амбулаторные больные поступают для биопсии в палату однодневного наблюдения в 9 ч утра. Пункцию выполняют не позднее 11 ч утра. Пульс, артериальное давление и лабораторный контроль показателей красной крови проводят и регистрируют таким же образом, как и у госпитализированных больных. Пациент должен находиться в больнице до 16 ч, в 16 ч 30 мин врач проводит его осмотр, и в 17 ч больной может отправляться домой на машине с сопровождающим, при условии, что он живет не дальше, чем в 30 мин езды от больницы, не останется дома один и имеет телефон.

2.10. ОСЛОЖНЕНИЯ ПРИ ПУНКЦИОННОЙ БИОПСИИ ПЕЧЕНИ

Различают местные и общие осложнения при пункционной биопсии печени. Местные связаны с введением в органы и ткани пункционной иглы. Это повреждение соседних органов, плевропюльмональные повреждения, кровотечение, желчный перитонит,

воздушная эмболия, нагноение и др. Общие осложнения связаны с ответной реакцией организма на отдельные компоненты пункций. К ним относятся болевой симптом, вагусные симптомы (головокружение, тошнота, потоотделение, гипотензия, коллапс-симптомы), аллергические реакции на средства премедикации и др. Количество летальных исходов после пункционной биопсии печени варьирует от 0 до 3,3 на 1 000 биопсий [44].

Количество и вид осложнений могут быть связаны с недостаточной оснащенностью медицинских центров, прежде всего, с невозможностью проведения процедуры под ультразвуковым контролем.

В 174 случаях биопсий печени мы не имели серьезных осложнений. Основной проблемой было малое количество биопсийного материала (в 8,6 % случаев), получаемое при использовании методики «слепой» биопсии печени.

Плеврит и перигепатит. На следующий день после биопсии может выслушиваться шум трения брюшины или плевры, обусловленный фибринозным перигепатитом или плевритом. Существенного значения это осложнение не имеет, боли облегчаются приемом анальгетиков. При рентгенографии грудной клетки можно выявить незначительный пневмоторакс.

Кровотечение из печени в месте прокола длится обычно не более одной-двух минут, о чем свидетельствуют лапароскопические обследования и наши наблюдения при пункциях во время лапаротомии. Так как крупных артериальных стволов в местах, доступных пункции, не встречается, опасность артериального кровотечения незначительна. Кровотечение может иметь место в случаях геморрагических диатезов со значительным нарушением свертываемости крови, а также при грубой травматизации органа вследствие технических погрешностей при проведении пункции (использования толстой иглы, грубой, неумелой манипуляции, беспокорного поведения больного, игнорирования необходимости пунктировать в дыхательной паузе и др.). Как справедливо указывают некоторые авторы [12], с увеличением калибра пункци-

онной иглы опасность кровотечения при пункции печени возрастает в геометрической прогрессии. Возможны кровотечения при повреждении межреберной артерии. Опасны внутренние кровотечения при проколе гемангиомы и пузырной артерии в случае аномального ее расположения.

Кровотечение со смертельным исходом наблюдается у 0,11 % больных, не смертельное кровотечение — у 0,24 %. К факторам риска кровотечения относятся: а) злокачественная опухоль, б) пожилой возраст, в) женский пол, г) многократные попытки проведения биопсии. Частота осложнений у больных с заболеваниями крови выше, чем у больных с патологией печени. Кровотечение обычно развивается, когда его менее всего ожидают и риск кажется незначительным. Возможно, оно обусловлено не нарушением свертывания крови, а другими причинами, например, концентрацией факторов свертывания в паренхиме печени или недостаточным механическим сдавливанием пункционного канала эластичной тканью печени.

Внутрипеченочные гематомы. Частота внутрипеченочных гематом, выявляемых при УЗИ через 2-4 ч после биопсии, составляет около 2 %. Этот показатель, вероятно, занижен, так как в течение первых 24-48 ч они остаются изоэхогенными и не обнаруживаются при УЗИ. Через сутки после биопсии гематомы (обычно бессимптомные) выявляют у 23 % больных. С развитием гематом связывают лихорадку, повышение активности сывороточных трансаминаз, снижение показателя гематокрита. Большие гематомы могут сопровождаться увеличением печени и уплотнением в правом подреберье, определяемом при пальпации.

Гемобилия является следствием кровотечения из поврежденной печеночной артерии или вены в желчный проток. Признаком гемобилии является желчная колика, сопровождающаяся увеличением и болезненностью печени, а иногда и увеличением желчного пузыря. Диагноз подтверждается при УЗИ или эндоскопической ретроградной холангиопанкреатикографии.

Артериовенозная фистула. Формирование артериовенозной фистулы, выявляемой при печеночной артериографии, осложняет биопсию печени в 5,4 % случаев.

При морфологическом исследовании обнаруживают выраженный склероз ветвей воротной вены. Фистула может спонтанно закрыться; в противном случае показаны прямая катетеризация печеночной артерии и эмболизация поврежденной артерии.

Желчный перитонит - второе по частоте (после кровотечения) осложнение биопсии. Имеются сведения о 49 случаях на 123 000 биопсий с 12 смертельными исходами. Обычно желчь просачивается из атипично расположенного желчного пузыря или из расширенных желчных протоков. Истечение желчи выявляют при сцинтиграфии желчных путей. Как правило, при данном осложнении необходимо хирургическое лечение, однако могут оказаться успешными и консервативные мероприятия, включающие внутривенное введение растворов, назначение антибиотиков и наблюдение в отделении интенсивной терапии.

Пункция других органов. При биопсии печени возможна случайная пункция почки или толстой кишки, которая редко имеет клиническое значение.

Инфекция. Транзиторная бактериемия наблюдается относительно часто, особенно у больных с холангитом. Сепсис развивается реже, при посевах крови обычно обнаруживают *Escherichia coli*.

В отдельных случаях после пункции описано развитие плеврального шока: резкие боли в месте пункции, падение артериального давления, тахикардия. Редким и скоропреходящим осложнением являются пневмоторакс и рефлексорный парез кишечника.

Строгое соблюдение технических правил при проведении пункций печени с непременным учетом показаний и противопоказаний к ней в значительной мере гарантирует от указанных осложнений и делает ее почти безопасной.

2.11. ОШИБКИ И ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРУДНОСТИ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ БИОПСИИ, ИХ ПРЕОДОЛЕНИЕ

Биопсию следует считать успешной, если получен столбик не менее 1,5 см или несколько фрагментов печеночной ткани общей длиной более 1,5 см. В этом случае можно надеяться, что морфолог обнаружит три портальных тракта и две центральные вены, что, как правило, является достаточным для гистологического исследования. Неинформативные биопсии печени составляют в среднем 1-2 %, что зависит от группы обследуемых, особенностей конституции пациента, опыта исследователя.

Основными причинами неудачной биопсии являются:

Крупноузловой цирроз печени. В этом случае аспирируется содержимое ложной дольки, тогда как строма с измененными портальными трактами, прочно фиксированная мощными пластами соединительной ткани, в иглу не попадает. Вероятность неинформативной биопсии при крупноузловом циррозе печени составляет до 5 %.

Отсутствие герметичности в месте соединения шприца с иглой или плохо подогнанный поршень шприца. При этом невозможно создать вакуум для аспирации печеночной ткани. Поршень шприца должен быть тщательно подогнан, а место соединения шприца и иглы тщательно притерто. Целесообразно на подготовительном этапе до стерилизации проверить герметичность соединений и разложить инструменты в несколько комплектов.

Наличие в игле фрагментов мягких тканей, не удаленных путем вымывания. Они служат механическим препятствием попаданию в иглу ткани печени даже при наличии вакуума в системе.

Несоблюдение пациентом правил дыхания при биопсии. Если в момент прохождения капсулы печени пациент не делает глубокий выдох или не задерживает дыхание, он «уходит» от иглы. Для преодоления этих трудностей целесообразна тренировка больного с задержкой дыхания, а также помощь ассистента. Им может

быть лечащий врач больного, присутствующий в операционной. Ассистент становится напротив оператора (слева от больного), кладет свои ладони на переднюю брюшную стенку пациента в области правого подреберья за пределами операционного поля. В момент глубокого выдоха ассистент фиксирует грудную клетку и печень путем надавливания ладонями на край реберной дуги и подреберье.

Недостижение иглой капсулы печени. Причиной может быть неправильно определенная толщина подкожного жирового слоя и выбор короткой иглы. Возможно, неудачно выбрана точка вкола инструмента - как правило, слишком высоко по средней подмышечной линии. Причиной может служить и неверное направление продвижения иглы, когда из-за боязни перфорировать желчный пузырь или толстую кишку ее отклоняют либо вверх - к передней брюшной стенке, либо влево - к грудной полости и диафрагме. В этом случае острие иглы не прокалывает капсулу печени, а скользит по ее поверхности вдоль купола диафрагмы. У пациентов с гиперстеническим типом телосложения даже при точном соблюдении методики проведения биопсии достичь капсулы печени иногда не удастся вследствие широко развернутого реберного угла. В этой ситуации можно попросить больного слегка повернуться на правый бок либо подложить валик ему под лопатки или под левый бок (для смещения печени вправо).

Повторную биопсию следует проводить за редким исключением из этой же точки вкола. В случае, если и эта биопсия окажется безрезультатной, дальнейшие попытки ее выполнения следует прекратить из-за увеличивающейся опасности развития тяжелых осложнений. Также необходимо вызвать в операционную более опытного оператора.

Альтернативой является чрескожная аспирационная биопсия, при которой пациент укладывается на живот, а обе руки его согнуты и находятся под головой. Дальнейшие этапы процедуры аналогичны описанным выше. Считается, что в этом положении достигается наилучшая фиксация печени во время исследования,

она более плотно прилегает к брюшной стенке. Вероятность безрезультатной биопсии крайне низкая. По-видимому, данная методика может использоваться специалистом, имеющим немалый опыт биопсий, поскольку при таком положении пациента теряются из вида некоторые анатомические ориентиры (край реберной дуги и др.).

2.12. ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ ОБРАБОТКА БИОПСИЙНОГО МАТЕРИАЛА

Для исследования биопсийный материал помещают на кусочек фильтровальной бумаги, который опускают в фиксатор. Фиксацию биоптата проводят по методу Лилли в 10 %-ном забуференном формалине. Материал заливают в парафин, с каждого блока приготавливают по 10 срезов, так как в одном кусочке на разных уровнях морфологические изменения могут варьировать. Срезы монтируют на двух предметных стеклах и окрашивают гематоксилин-эозином. В ряде наблюдений используют методы окраски по Ван-Гизона и MSB для исследования степени коллагенообразования. Для гистохимических исследований кусочки ткани замораживаются при температуре жидкого азота (-196 °С), а затем разрезаются на криостате [39].

2.13. ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ АКТИВНОСТИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА

В работе использовалась предложенная В.В.Серовым и Л.О.Севергиной ранговая система учета степени активности хронического гепатита - гистологический индекс степени активности (ГИСА) [39]. В рамках гистологического индекса степени активности рассчитаны основные морфологические параметры хронического гепатита С: некроз гепатоцитов, дистрофия гепатоцитов, воспали-

тельный инфильтрат, изменения синусоидов, поражение желчных протоков (табл. 2.1).

Таблица 2.1

**Оценка форм выраженности хронического гепатита С
с помощью гистологического индекса степени активности**

Морфологическое проявление	Характеристика	Баллы
1. Некроз гепатоцитов	А. Перипортальный сегментарный, в части портальных трактов	1-4
	Б. Перипортальный сегментарный, всех портальных трактов	5-8
	В. Перипортальный перисинусоидальный, во всех портальных трактах вплоть до мостовидных	9-12
	Г. Внутривенный фокальный, в части долек	1-4
	Д. Внутривенный фокальный, в большинстве долек	5-8
2. Дистрофия гепатоцитов	А. Гидропическая и (или) жировая (слабая, умеренная, выраженная)	1-6
	Б. Баллонная и (или) ацидофильные тельца (Каунсильмена)	1-4
3. Воспалительным инфильтрат	А. В портальных трактах	1-3
	Б. В портальной зоне (слабый, умеренный, выраженный)	2-6
	В. Внутри долек	1-3
	Г. Лимфоидные фолликулы в портальных трактах и (или) внутри долек	1-6
4. Изменения синусоидов	А. Гиперплазия звездчатых ретикуло-эндотелиоцитов и эндотелия	1-6
	Б. Цепочки лимфоцитов	1-3
5. Поражение желчных протоков	А. Деструкция	1-3
	Б. Пролiferация (слабая, умеренная, выраженная)	1-6

С учетом различных оценок отдельных показателей, в зависимости от распространенности и степени выраженности изменений, разработаны критерии (в баллах) для различной степени активности процесса: слабой, умеренной, выраженной при хронических гепатитах В, С и их сочетаниях. Слабая степень активности хронического гепатита В соответствует 1-14 баллам, хронического гепатита С - 1-18 баллам, умеренная - соответственно 15-27 и 19-40 баллам, выраженная - 28-42 и 41-66 баллам.

Международной рабочей группой гастроэнтерологов предложено характеризовать активность патологического процесса с помощью гистологического индекса степени активности (ГИСА), выражаемого в баллах: 1-3 - минимальный хронический гепатит, 4-8 - легкий, 9-12 - умеренный, 13-18 - тяжелый.

2.14. ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТАДИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА

Для оценки стадии процесса в печеночной ткани (выраженности фиброза) существуют несколько систем учета Knodell, Scheuer, Sciot и Desmet (табл. 2.2) [146].

Таблица 2.2

Характер фиброза печеночной ткани по разным системам учета стадии хронического гепатита

Балл	Степень фиброза	Knodell et al	Scheuer	Sciot & Desmet
0	Отсутствует	Нет	Нет	Нет
1	Слабая	Фиброз и расширение портальных трактов	Портальный и перипортальный фиброз	Фиброз и расширение портальных трактов
2	Умеренная	Порто-портальные септы (более 1)	Перипортальный фиброз	Перипортальный фиброз, порто-портальные септы, интактная архитектура

Продолжение таблицы 2.2

Балл	Степень фиброза	Knodell et al	Scheuer	Sciot & Desmet
3	Тяжелая	Порто-портальные и порто-центральные септы	Порто-центральные септы (более 1)	Фиброз с нарушением архитектоники, но не цирроз
4	Цирроз	Цирроз	Цирроз	Вероятный или доказанный цирроз

Однако наиболее распространенным является гистологический индекс стадии хронизации (ГИСХ), разработанный В.В.Серовым и Л.О.Севергиной (табл. 2.3) [39].

Таблица 2.3

**Оценка форм выраженности хронического гепатита
с помощью гистологического индекса стадии хронизации (ГИСХ)**

Морфологическое проявление	Характеристика	Баллы
1. Фиброз	А. Большинство портальных трактов с их расширением	1-2
	Б. Большинство портальных трактов с их расширением и сегментарный перипортальный	3 ^
	В. Большинство долек, синусоидальный	1-4
	Г. С образованием порто-септальных септ (более 1)	3-5
	Д. С образованием порто-септальных септ (более 1) и нарушением строения печени	9-12
	Е. С образованием септ и ложных долек	13-16
2. Цирроз		16

Фиброз характеризуется с помощью гистологического индекса стадии хронизации следующим образом: 1-4 балла - слабый фиброз (1 стадия хронизации); 5-8 баллов - умеренный (2 стадия); 9-12 баллов - тяжелый (3 стадия); 13-16 баллов - цирроз (4 стадия).

2.15. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комплексное исследование патологии печени, включающее наряду с общепринятыми лабораторными и инструментальными тестами пункционную биопсию, позволяет объективно установить клинический диагноз, сделать прогноз и подобрать индивидуальную терапию. Благодаря использованию УЗИ методика чрескожной биопсии печени стала более совершенной, возросла ее диагностическая ценность при диффузных заболеваниях печени (в частности, при вирусных гепатитах) на фоне системных заболеваний соединительной ткани.

ГЛАВА III

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА HCV В БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ

Изучение тропности вируса гепатита С к различным тканям при ревматических заболеваниях может способствовать уточнению патогенетических механизмов синдрома взаимного отягощения, установлению критериев тяжести и прогноза заболевания, усовершенствованию принципов лечения сочетанной патологии.

Полагают, что возникновение вирусного артрита зависит не только от вида возбудителя, но и от его разновидности, фазы виремии при развитии инфекционного процесса, тропности вируса к суставным тканям и его способности оказывать цитопатическое действие на поражаемые клетки. Наряду с этим важное значение имеет состояние общих и местных неспецифических и иммунных механизмов противовирусной защиты организма [82].

3.1. ИССЛЕДОВАНИЕ МОНОНУКЛЕАРОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

На ранней стадии вирусного гепатита С ведущую роль играют такие факторы, как продукция интерферонов и фагоцитарная активность мононуклеаров, а в последующем - гуморальные и клеточные реакции иммунной системы с разрушением инфицированных клеток лимфоцитами-киллерами, прекращающими таким образом внутриклеточную инфекцию [46, 94, 104]. В тоже время участие фагоцитарной системы, и прежде всего нейтрофилов, остается важным звеном в реализации и самоподдержании ревматоидного воспаления. Нейтрофилы первыми проникают в его очаг, где имеет место повреждение эндотелия сосудов [116]. Под влиянием иммунных комплексов нейтрофилы активизируются и выделяют в среду массу гидролитических ферментов, что является основной причиной системного поражения соединительной ткани и ряда других патологических расстройств при ревматоидном артрите [93, 182, 204].

Известно, что вирус гепатита С наиболее часто поражает лимфоциты, что может влиять на патогенез системных заболеваний соединительной ткани [157]. Наличие РНК вируса гепатита С в лимфоцитах приводит к хронической антигенной стимуляции и ведет к многократным мутациям, что в итоге может привести к развитию и лимфопролиферативных заболеваний [191]. Нейтрофилы и лимфоциты периферической крови рассматривались нами на предмет инвазии вирусом гепатита С.

В исследовании мы имели длительный период наблюдения (15 лет) отдельных больных ревматическими заболеваниями в сочетании с хроническим гепатитом С. Однако о ХГС в некоторых случаях мы могли судить только ретроспективно, так как ИФА-системы в то время только разрабатывались и субстратом для обнаружения РНК-ВГС служили фиксированные мазки крови, исследуемые на Т- и В-лимфоциты, полученные в градиенте фиколл-верографиновой смеси.

В лаборатории ультразвуковой молекулярной диагностики 9-й городской клинической больницы мазки клеток на предметном стекле были типированы современными тест-системами на наличие РНК вируса гепатита С *in vitro*. Это позволило нам в дальнейшем идентифицировать РНК-ВГС в любом биологическом материале, содержащем клеточные элементы.

Методом полимеразной цепной реакции в тканях исследовано 53 мазка концентрата нейтрофилов и 20 мазков концентрата лимфоцитов периферической крови одних и тех же больных. Мазки брали у 25 больных с ревматоидным артритом, у 9 - с системной красной волчанкой, у 5 - с системным склерозом, у 1 - с синдромом Шарпа, у 7 - с остеоартрозом и у 6 практически здоровых лиц. Вирус гепатита С был обнаружен у 7 пациентов с ревматоидным артритом (28 %), у 4 - с системной красной волчанкой (44,4 %), у 1 - с системным склерозом (25 %) и у 1 - с остеоартрозом (14,3 %). Таким образом, из 53 стекол концентрата нейтрофилов ПЦР-положительными на вирус гепатита С были 13 - 24,5 %. Из 20 образцов концентрата лимфоцитов HCV-позитивными были 9 - 45 %. То есть в нашем исследовании позитивные результаты были получены в образцах, содержащих концентраты как нейтрофилов, так и лимфоцитов.

Однако методика разделения мононуклеаров в фиколл-верографиновой смеси не позволяет приготовить абсолютно чистые образцы суспензии клеток (рис. 3.1), и мы дополнительно провели исследование иммуноцитохимическим методом для верификации клеток, подверженных HCV-инфицированию.

Из мазков нейтрофилов и лимфоцитов, которые при исследовании методом полимеразной цепной реакции дали положительные результаты на наличие вируса гепатита С, иммуногистохимически позитивными на ВГС были только мазки лимфоцитов, причем неструктурный белок (NS3) вируса располагался в ядерном материале лимфоцита.

Косвенным подтверждением избирательной тропности вируса гепатита С к лимфоцитам служит то, что частота его выявления

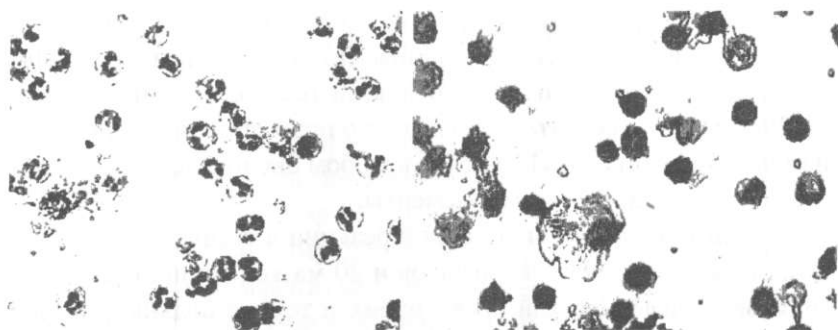


Рис. 3.1. Мазки концентрата нейтрофилов (слева) с единичными лимфоцитами и лимфоцитов (справа) с единичными нейтрофилами, взятые у больного ревматоидным артритом в сочетании с гепатитом С. Световая микроскопия с цифровой обработкой изображения «Биоскан», окраска гематоксилин-эозином. $\times 300$

молекулярными методами в концентрате лимфоцитов составляет 45 %, а в нейтрофилах – 24,5 % у одних и тех же пациентов. Сам факт обнаружения вируса в мазках нейтрофилов связан с невозможностью получения абсолютно однородной суспензии этих клеток без примеси лимфоцитов, которые и позволяют пробе в целом быть положительной. При более избирательной методике, каковой является иммуноцитохимическое исследование, экспрессия вируса гепатита С наблюдалась только в ядрах лимфоцитов периферической крови. Однако имеющееся небольшое число наблюдений данного феномена нуждается в дальнейшем исследовании.

3.2. ТЕСТИРОВАНИЕ НА HCV БИОПСИЙНОГО МАТЕРИАЛА И СЛЮНЫ

Полагают, что роль депо и переносчика артротропной вирусной инфекции в организме, способствующих реинфицированию суставных тканей, могут выполнять не только рециркулирующие лимфоциты и макрофаги, содержащие персистирующие в них ви-

русы. Существует точка зрения, что различные инфицированные клетки приобретают тропность к синовиальной оболочке вследствие экспрессии на их поверхности специфических антигенов артротропных вирусов [13]. Не исключено, что реинфицирование синовиальной оболочки может происходить также в результате фиксации в ней циркулирующих иммунных комплексов, содержащих инфекционноспособные вирусы, которые депонируются в хроническом очаге, расположенном вне суставов.

В данном разделе описано наше исследование иммуногистохимическим методом тропности вируса гепатита С к структурам печеночной, почечной и легочной тканей у больных, страдающих различными ревматическими заболеваниями.

Для выполнения поставленных задач были отобраны 14 пациентов, из которых 7 страдали ревматоидным артритом, 3 - суставным синдромом на фоне хронического гепатита С, 3 - системной красной волчанкой и 1 - системным склерозом. У 9 пациентов с системными заболеваниями соединительной ткани имел место хронический гепатит С, подтвержденный обнаружением методом ПЦР вирусной РНК в биопсийном материале и крови, у 2 - вирусный микст-гепатит. В 5 случаях для верификации распространенности органного поражения вирусом гепатита С в качестве контроля использовали аутопсийный материал. Положительными считались иммуногистохимические реакции, в результате которых в исследуемой ткани отмечалось отложение позитивных депозитов интенсивного рыже-коричневого цвета (комплекс антиген-антитело, маркированный хромогеном). Отрицательные результаты получены у 2 (14,3 %) пациентов, положительные - у 11 (78,6 %), однако один результат (7,1 %) был также положительным при отрицательных данных ПЦР-теста в ткани печени при хроническом лекарственном гепатите на фоне ревматоидного артрита (в случае лечения метотрексатом).

Контрольное исследование крови, проведенное через год методами ИФА и ПЦР, не подтвердило наличие в ней вирусной РНК и

неструктурных белков, что нами было верифицировано как ложноположительная гистохимическая реакция.

Экспрессию NS3 HCV отмечали в ткани печени, преимущественно в цитоплазме гепатоцитов и купферовских клетках, а также в ядрах отдельных гепатоцитов (рис. 3.2).

При использовании иммуногистохимического метода обнаружено, что в ткани почки ВГС-позитивные депозиты располагались в цитоплазме эпителиальных клеток, выстилающих извитые канальцы, и макрофагальных элементов интерстиция (рис. 3.3).

В табл. 3.1 представлены результаты гистохимического исследования тканевой тропности вируса гепатита С, из которых следует, что помимо печеночной, почечной и лимфоидной ткани вирус гепатита С способен поражать различные органы структуры.

Таблица 3.1

Результаты иммуногистохимического и ПЦР-исследования в различных тканях у больных ревматическими заболеваниями

Полимеразная цепная реакция в крови	Полимеразная цепная реакция в биоптате	Иммуногистохимия	Диагноз
+	+	Печень (+)	Реактивный артрит в сочетании с гепатитом С
+	+	Печень (+)	Ревматоидный артрит в сочетании с гепатитами В и С
?	+	Печень (+), почка (+)	Системная красная волчанка в сочетании с гепатитом С
.	.	Печень (-), почка(—)	Ревматоидный артрит в сочетании с хроническим гепатитом не вирусным
+	+	Печень (+)	Реактивный артрит в сочетании с гепатитом С
?	+	Печень (+), почка (+)	Ревматоидный артрит в сочетании с гепатитом С
.	.	Печень (+)	Ревматоидный артрит в сочетании с гепатитом С

Продолжение таблицы 3.1

Полимеразная цепная реакция в крови	Полимеразная цепная реакция в биоптате	Иммуногистохимия	Диагноз
+	+	Печень (+)	Системная красная волчанка в сочетании с гепатитом С
+	+	Печень (+)	Ревматоидный артрит в сочетании с гепатитами В и С
.	+	Печень (+)	Ревматоидный артрит? в сочетании с гепатитом С
+	+	Печень (+)	Системный склероз в сочетании с гепатитом С
?	+	Почка (+), легкое (+)	Ревматоидный артрит в сочетании с гепатитом С
+	+	Печень (-)	Системная красная волчанка в сочетании с гепатитом С

При исследовании ткани легкого экспрессия NS3 HCV-антигена определялась в цитоплазме десквамированных эпителиальных клеток в просвете бронхов (рис. 3.4).

На результаты иммуногистохимической диагностики оказывает влияние хологенная пигментация, что не позволяет визуализировать экспрессию неструктурных белков вируса гепатита С [53]. В нашем исследовании был также зафиксирован один ложноотрицательный случай на 14 иммуногистохимических исследований (7,1 %) при позитивном ПЦР-тесте печеночного биоптата (рис. 3.5).

Различия в заключениях, полученных методом молекулярной диагностики вируса гепатита С в тканях и крови, свидетельствуют, что ни один метод не является абсолютным. Приходится считаться с наличием ложноположительных и ложноотрицательных заключений, широко известных не только при иммуноферментном анализе, но и при полимеразной цепной реакции и иммуногистохимическом исследовании. Только комплексная оценка результатов применения различных лабораторных методов позволяет установить диагноз HCV-инфекции как можно точнее.

3.3. ТРОПНОСТЬ ВИРУСА К КЛЕТОЧНЫМ ЭЛЕМЕНТАМ ПЕЧЕНОЧНОЙ ТКАНИ

Нами была исследована тропность вирусного гепатита С к отдельным структурам печеночной ткани. Как уже отмечалось, он избирательно поражает лимфоциты периферической крови, лимфоидные клетки портального тракта (рис. 3.6, 3.7), цитоплазму, ядра купферовских клеток и билиарный эпителий (рис. 3.8-3.10).

Таким образом, молекулярная диагностика позволила определить наличие вируса гепатита С в ядрах и цитоплазме гепатоцитов и купферовских клеток, в билиарном эпителии и лимфоидной ткани, а также верифицировать белки вируса в ткани до серологической диагностики хронического гепатита С при ревматических заболеваниях. Благодаря данной методике стало возможным диагностировать хронический гепатит С при иммуногистохимическом исследовании биоптата на фоне криптогенного хронического гепатита с высокой активностью, протекающего без наличия РНК вируса гепатита С в крови. В практическом плане при длительной гиперферментемии, когда невозможно установить этиологический фактор гепатита, проведение пункционной биопсии печени с иммуногистохимической оценкой биоптата становится совершенно обоснованным.

3.4. ПЦР-ДИАГНОСТИКА ВИРУСА ГЕПАТИТА С В НАТИВНОЙ СЛЮНЕ

Некоторые авторы полагают, что для проведения лабораторной диагностики хронического гепатита С слюна является одним из самых доступных материалов [141]. Однако получение качественной информации возможно лишь при наличии в ротовой жидкости достаточного количества клеточного материала (эпителия слизистой оболочки, форменных элементов крови) и достаточной вирусной

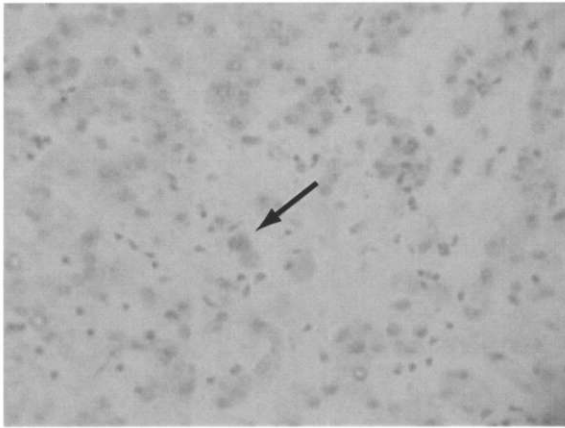


Рис. 3.2. Экспрессия NS3 HCV в цитоплазме гепатоцитов (указано стрелкой) больного ревматоидным артритом в сочетании с гепатитом С. ×400



Рис. 3.3. Экспрессия NS3 HCV в цитоплазме эпителия извитых канальцев почки, NS3 HCV позитивная десквамированная эпителиальная клетка в просвете канальца при ревматоидном артрите в сочетании с гепатитом С с системными проявлениями. ×400

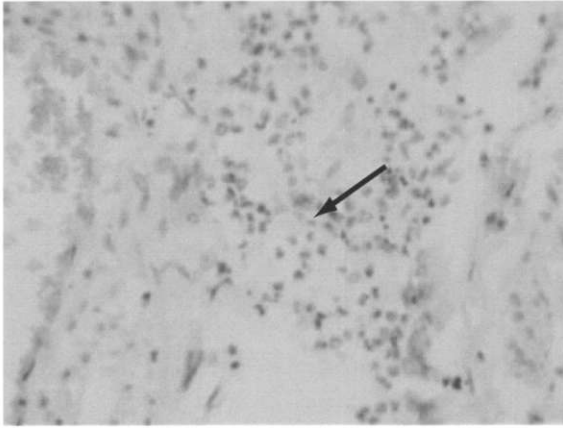


Рис. 3.4. Экспрессия NS3 HCV в цитоплазме десквамированной эпителиальной клетки в просвете бронха при ревматоидном артрите в сочетании с гепатитом С. $\times 400$

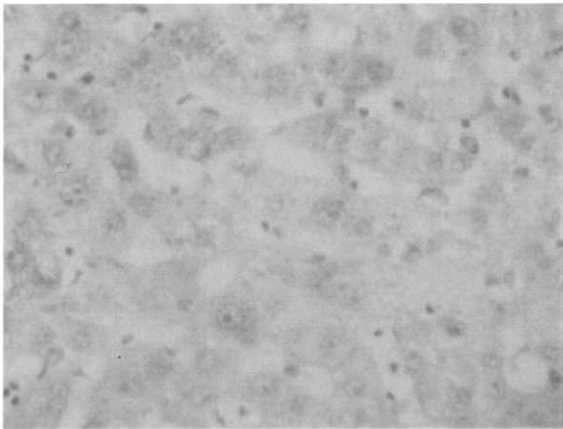


Рис. 3.5. Отсутствие экспрессии NS3 HCV при обильной хологенной пигментации цитоплазмы гепатоцитов в случае ревматоидного артрита в сочетании с гепатитом С с системными проявлениями и достоверной полимеразной цепной реакцией ВГС в печеночном биоптате. $\times 400$

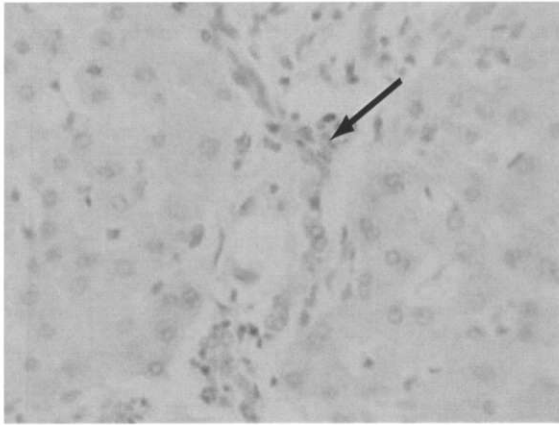


Рис. 3.6. Экспрессия NS3 HCV в лимфо-макрофагальной структуре портального тракта (указано стрелкой) больного системной красной волчанкой в сочетании с гепатитом С. $\times 400$

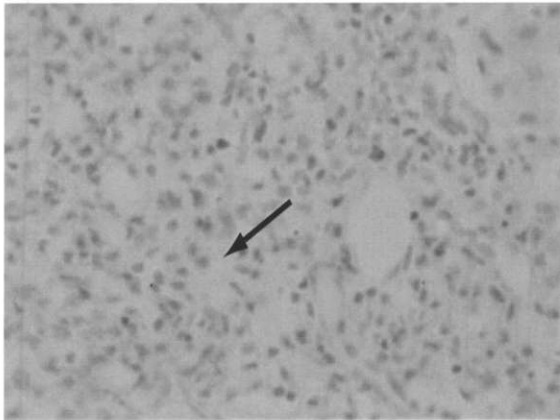


Рис. 3.7. Экспрессия NS3 HCV (указано стрелкой) в лимфоцитах из состава воспалительного инфильтрата портального тракта печеночной ткани. $\times 400$

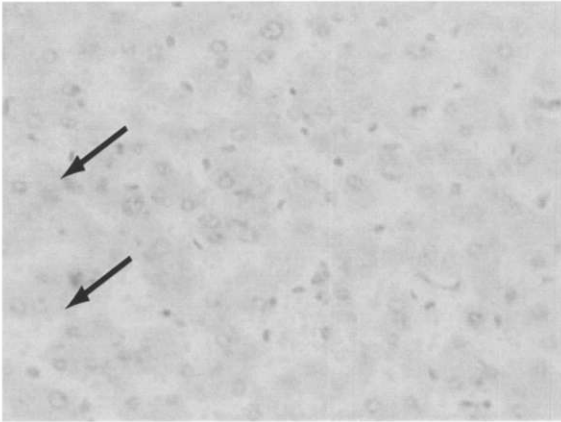


Рис. 3.8. Экспрессия NS3 HCV в цитоплазме гепатоцитов (верхняя стрелка) и купферовской клетке (нижняя стрелка) больного системной красной волчанкой в сочетании с гепатитом С. $\times 400$

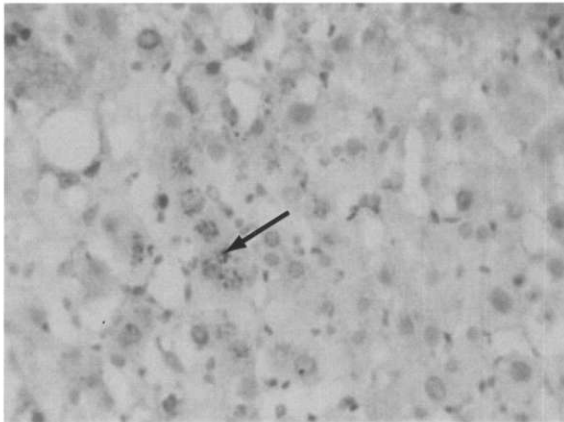


Рис. 3.9. Экспрессия NS3 HCV в ядре и цитоплазме гепатоцитов (указано стрелкой) больного ревматоидным артритом в сочетании с хроническим гепатитом не вирусным (HCV в крови ранее не определялся!). $\times 400$

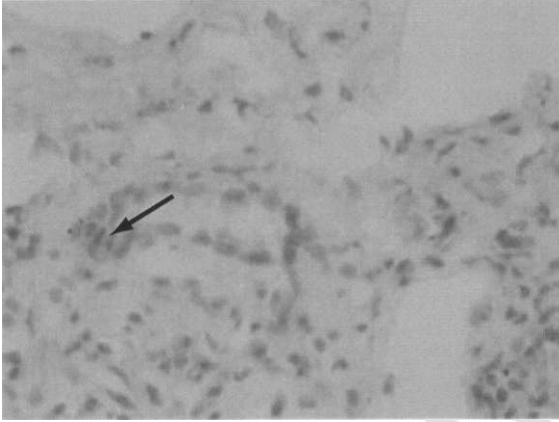


Рис. 3.10. Экспрессия NS3 HCV в цитоплазме билиарного эпителия (указано стрелкой). Пациент длительно наблюдался как больной криптогенным ХГ высокой степени активности, в дальнейшем выставлен хроническая гепатит С высокой активности. $\times 400$

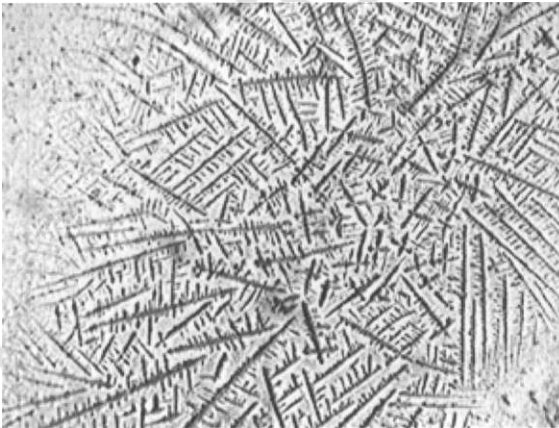


Рис. 3.11. Препарат ротовой жидкости (мазок на предметном стекле) больного ревматоидным артритом в сочетании с гепатитом С. Световая микроскопия. $\times 10$

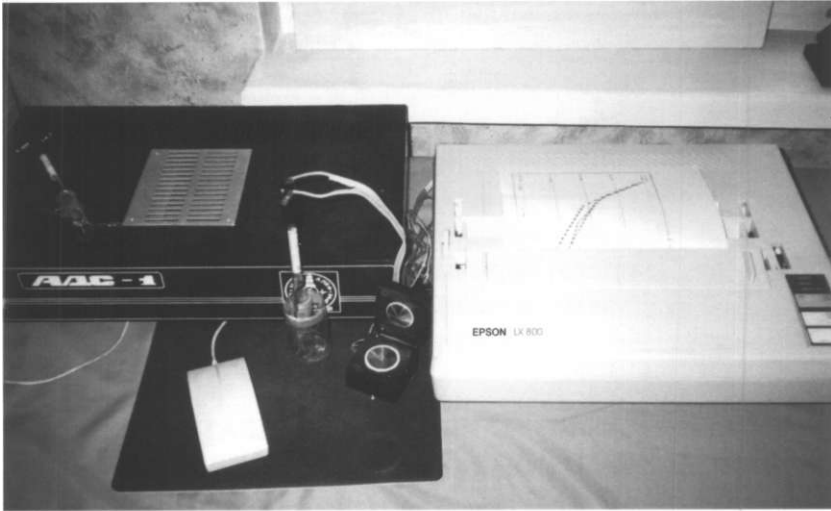


Рис. 4.2. АДС-1 и измерительный модуль

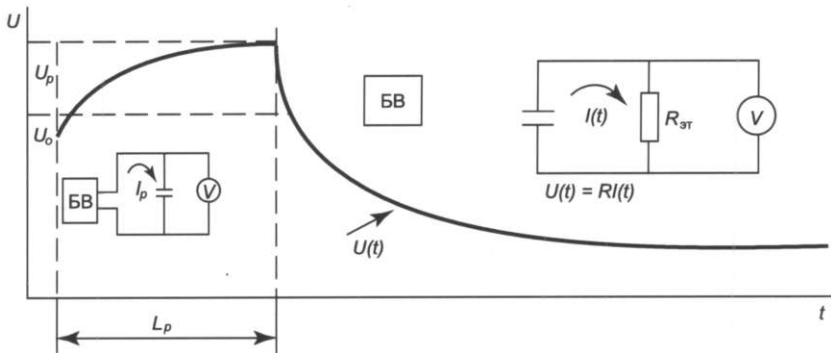


Рис. 4.3. Принцип работы АДС-1 при воздействии током поляризации на образец сыворотки крови: БВ - блок воздействия; U - напряжение сигнала; R - сопротивление образца

нагрузке. Нами было проведено 45 тестов на верификацию РНК вируса гепатита С в слюне у больных ревматическими заболеваниями, в том числе у 15 пациентов, серопозитивных на ВГС по анализам крови. Зафиксированный мазок слюны с визуализацией нативных микрокристаллов ротовой жидкости представлен на рис. 3.11.

В нашем исследовании на фоне ревматической патологии даже при наличии в крови вирусной РНК ротовая жидкость не давала положительных результатов тестов на вирус гепатита С, что может быть связано с преобладанием умеренной активности хронического гепатита С и малой вирусной нагрузкой.

3.5. СОПОСТАВЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ И ИФА-ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С

В связи с недостаточной информативностью клинико-лабораторных данных, использующихся на первом этапе обследования пациентов с ревматическими заболеваниями при подозрении на хронический гепатит, особую актуальность приобретает вирусологическое исследование сыворотки крови с помощью иммуноферментного анализа и полимеразной цепной реакции.

Как указывают некоторые авторы, при доступном иммуноферментном анализе возможны ложноположительные результаты, что чаще всего является следствием наличия в анализируемом образце антител к супероксиддисмутазе. Совместно с ней в рекомбинантных дрожжевых клетках синтезируется с100-3, использующийся в иммуноферментных тест-системах в качестве антигена для идентификации вируса гепатита С [125]. На результаты тестирования также влияют гипергаммаглобулинемия на фоне системных заболеваний соединительной ткани, недавние вакцинации (особенно против кори), криоглобулинемия (т. к. HCV может образовывать криопреципитат) [144]. Сообщалось о ложноположительных результатах после повторного размораживания

образцов или после их длительного хранения при нестабильной температуре [280]. Антитела к HCV образуются в среднем за 8-20 недель с момента инфицирования или через 15 недель от начала гепатита, у некоторых больных для их образования требуется около года. Отсутствие антител к HCV не исключает диагноз вирусного гепатита С. Кроме того, 20 % больных хроническим гепатитом С могут быть серонегативными, так как содержат низкие титры анти-HCV антител на фоне иммунодефицита или иммуносупрессивной терапии [74, 92].

Полимеразная цепная реакция ткани печени в парафиновых срезах проведена нами в 44 случаях. В 23 из них (52,3 %) зафиксирован отрицательный результат, в 20 (45,5 %) - положительный, в одном случае (2,3 %) был получен отрицательный результат в ткани при положительной полимеразной цепной реакции в крови пациента, что нами было интерпретировано как ранний период вирусного гепатита С на фоне ревматоидного артрита.

Из 136 исследований крови полимеразной цепной реакцией тест был положительным у 74 пациентов (54,4 %), отрицательным - у 62 (45,6 %). В трех случаях (2,2 %) положительный ПЦР-тест крови у больных ревматоидным артритом сочетался с отрицательными данными иммуноферментного анализа, что было расценено как ложноотрицательные результаты иммуноферментного анализа. Два отрицательных ПЦР-теста и (0,6 %) при реактивном артрите сопровождалось положительными заключениями по иммуноферментному анализу, что позволило интерпретировать результаты как ложноположительные (табл. 3.2).

Иммуноферментный анализ на вирус гепатита С проведен в исследуемой группе из 332 пациентов. Тест был положительным в 176 случаях (53 %) и отрицательным - в 139 (41,9 %). В 17 случаях его результаты были сомнительными (5,1 %) (табл. 3.3).

Таблица 3.2
Соотношение спорных результатов тестирования на вирус гепатита С и установление диагноза

Количество обследованных больных (всего 33)	Кровь		Ткань		Интерпретация результатов	Диагноз		Процент измененных заключений
	ИФА	ПЦР	Гистохимический анализ	ПЦР		предварительный	окончательный	
1	-	-	+	-	Бессимтомное носительство ВГС	РА ХГ	РА С	3,1
2	-	-	+	+	Ложноотрицательное заключение	РА	РА С	6,2
4	-	-	нет	+	Ложноотрицательное заключение	ХГ	ХГС	12,4
2	-	+	нет	+	Ложноотрицательное заключение	ХГС	ХГС	6,2
1	-	+?	нет	+	Ложноотрицательное заключение	РА	РА С	3,1
4	+	-	нет	-	Ложноотрицательное заключение	ХГС	ХГ	12,4
2	+	нет	нет	-	Ложноотрицательное заключение	РеА С	РеА ХГ	3,1
2	+?	+?	нет	нет	Ложноотрицательное заключение	РА С	РА С?	6,2
1	-	+?	-	-	Внепеченочная репликация ВГС	РА С	РА С?	3,1
2	+	+	+	-	Ранний период ВГС или внепеченочная репликация	СКВ С	СКВ С	6,2
5	+	+	нет	-	Ранний период ВГС или внепеченочная репликация	ХГС	ХГС	15,6
2	+	+?	+	-	Ранний период ВГС	РА	РА С	6,2
2	+	+	нет	нет	Ранний период ВГС	РА С	РА С	6,2
1	-	нет	нет	+	Пересмотр диагноза	Гипербилирубин	ХГС	3,1
2	-	нет	нет	+	Пересмотр диагноза	ХГ выс. акт.	ХГС	6,2

**Частота получения
ложноположительных и ложноотрицательных
заключений на вирус гепатита С
методом ИФА при различных заболеваниях**

Нозология	Ложноположительные		Нозология	Ложноотрицательные	
	<i>n</i>	%		л	%
Ревматоидный артрит в сочетании с гепатитом С	3	0,9	Ревматоидный артрит	3	0,9
Реактивный артрит в сочетании с гепатитом С	2	0,6	Хронический гепатит С высокой активности	2	0,6
Системная красная волчанка в сочетании с гепатитом С	3	0,9			
Первичный синдром Шегрена в сочетании с гепатитом С	1	0,3			
Хронический гепатит С	2	0,6	Хронический гепатит	1	0,3
Всего	11	3,3	Всего	6	1,8

Как видно из табл. 3.3, наибольшее число ложноположительных заключений (0,9 %) по ИФА-диагностике получено в группе пациентов с такими заболеваниями, как системная красная волчанка в сочетании с гепатитом С и ревматоидный артрит в сочетании с гепатитом С. Это, на наш взгляд, связано с наличием большого числа циркулирующих иммунных комплексов и несовершенством методики иммуноферментного анализа 1 и 2 поколений для пациентов с аутоиммунной патологией.

Полученные данные свидетельствуют, что при постановке диагноза «хронический гепатит С» на фоне ревматических заболеваний нельзя ориентироваться на результаты только одного теста. Необходимо сопоставлять результаты различных способов лабораторной диагностики вируса гепатита С.

Нами были отобраны 33 больных с неоднозначными заключениями о наличии вируса гепатита С, полученными при иммуноферментном анализе, полимеразной цепной реакции и иммуногистохимической диагностике (см. табл. 3.3).

В случаях, когда лабораторная и серологическая диагностика хронического гепатита С не позволяла достоверно судить о наличии вируса гепатита С и клинический диагноз не мог быть окончательно установлен, исследование биопсийного материала печени проводилось адаптированной методикой ПЦР в тканях.

В целом, изменение предварительного диагноза с учетом результатов молекулярной диагностики биоптата отмечалось у 15 из 169 больных, которым проводилась пункция, что составляет 8,9 %.

Особенно настораживает гипердиагностика ХГС при использовании тест-систем иммуноферментного анализа. В данном случае мы имеем дело либо с самой ранней стадией вирусного гепатита С (с его внепеченочной пролиферацией), либо с чистой гипердиагностикой данного заболевания. Применить ко всем больным методы молекулярной диагностики на этапе скрининга не представляется возможным из-за длительности получения окончательного результата, а также сохраняющейся высокой стоимости исследования, однако перед проведением пункционной биопсии целесообразно дождаться результата ПЦР-тестирования крови.

Имеющиеся различия обусловлены тем, что полимеразная цепная реакция не требует осаждения иммунных комплексов, как при ИФА-тестах, следовательно, ложноположительных реакций практически нет. Как отмечено некоторыми авторами, из 100 больных с РНК HCV антитела класса IgM к HCV были обнаружены у 66. В то же время из 171 сыворотки с отрицательными ПЦР-данными антитела класса IgM к HCV были обнаружены в 45, что свидетельствует либо о ложноположительных результатах, либо о колеблющейся виремии, либо о внепеченочной репликации вируса [47, 156]. В нашем исследовании у 4 больных (из них

2 - е системной красной волчанкой в сочетании с гепатитом С, 1 - с ревматоидным артритом в сочетании с гепатитом С, 1 - с хроническим гепатитом С) был положительным тест исследования на РНК вируса гепатита С в крови, но отрицательным - в ткани печени, что также может быть подтверждением внепеченочной репликации вируса либо ранней фазой течения хронического гепатита С.

Нами рассчитаны чувствительность и специфичность тестов детекции вируса гепатита С в крови и тканях (табл. 3.4).

Таблица 3.4

**Чувствительность и специфичность тестов
детекции вируса гепатита С в крови и тканях**

Метод	Число исследований	Чувствительность (%)	Специфичность (%)
Полимеразная цепная реакция в крови	136	98,6	98,4
Полимеразная цепная реакция в ткани	58	92,3	97,9
Иммуногистохимический анализ	14	90,9	66,7
Иммуноферментный анализ	332	94,5	90,3

Из расчетов следует, что методы молекулярной диагностики высокочувствительны и специфичны, метод иммуноферментного анализа также имеет сопоставимую точность диагностики, результаты иммуногистохимического исследования имеют невысокую специфичность из-за малого объема выборки.

Учитывая большое число различных аутоантител, методы молекулярной диагностики вирусных гепатитов по анализам крови у лиц с системными заболеваниями соединительной ткани более оправданы, чем иммуноферментный анализ, а верификация неструктурных белков вируса гепатита С в тканях возможна только

с использованием методов молекулярной диагностики (полимеразной цепной реакции в ткани и иммуногистохимического анализа).

3.6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Деструктивный эрозивный процесс - ведущий механизм повреждения суставов при ревматоидном артрите. В поддержании воспалительных изменений, протекающих при ревматических заболеваниях, значительная роль принадлежит нейтрофилам и лимфоцитам [25, 34, 64, 137, 253]. Показано, что наличие неспецифической реактивности нейтрофилов отражает их патогенетическую значимость и избирательную нечувствительность к вирусу гепатита С.

Клиническая картина хронического гепатита С в ряде наблюдений характеризуется не только поражением печеночной ткани, но и различными внепеченочными проявлениями, которые могут быть обусловлены иммунокомплексными механизмами. Более полному пониманию патогенеза системных проявлений при хронической вирусной инфекции будет способствовать установление факта внепеченочной репликации вирусов гепатита, что подтверждено обнаружением антигенов вируса гепатита С в лимфоцитах при использовании высокоспецифичных методов полимеразной цепной реакции и иммуногистохимического анализа.

Методами молекулярной диагностики установлена тропность вируса гепатита С не только к печеночной, но и к почечной ткани, причем оба органа поражаются одновременно. Неструктурные белки вируса гепатита С обнаружены также в ткани легкого (бронхиальном эпителии), лимфоцитах периферической крови и портальных трактов, эпителии билиарных протоков. В клинически неоднозначных ситуациях с высоким уровнем гепатоспецифических ферментов показано морфологическое исследование печеночного биоптата для верификации вируса гепатита С в тканях. Иммуногистохимическое исследование биоптата при криптогенном

гепатите позволяет диагностировать вирусное поражение печени (в том числе хронический гепатит С), протекающее без наличия РНК вируса гепатита С в крови. С другой стороны, пункционная биопсия печени позволяет исключить диагноз гепатита С. Это особенно важно, если от результатов исследования зависит профессиональная деятельность пациента. В группе больных с системными заболеваниями соединительной ткани метод иммуноферментного анализа приемлем в основном для скрининга обследуемых на наличие вируса гепатита С, и предпочтение следует отдавать методам молекулярной диагностики.

ГЛАВА IV

МЕТОД ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ ДЕПОЛЯРИЗАЦИИ

Высокая стоимость методик молекулярной диагностики, неоднозначность их результатов заставляет искать другие методы для оценки выраженности вирусии и контроля эффективности лечения. В нашем исследовании использована детекция антител с помощью электретного анализа.

Биологические жидкости организма человека способны сохранять электрический заряд в течение некоторого времени после прекращения действия внешнего электрического поля. Кинетика возврата к исходному невозбужденному состоянию определяется составом и структурой жидкости, ее релаксационными свойствами. Жидкие среды, в данном случае - сыворотка крови, состоят из компонентов, которые по-разному ведут себя в электрическом поле. В среде создается пространственно неоднородное распределение заряда с ориентированными по полю полярными макромолекулами и квазидиполями (поляризующимися в электрическом поле нейтральными мицеллами). В результате в образце запасается некоторое количество электрической энергии - он поляризуется. После снятия внешнего поляризующего напряжения образец не

может отдать накопленную энергию мгновенно. В течение определенного времени разряда через регистрирующее устройство течет ток деполяризации. Существование тока деполяризации означает наличие у исследуемых систем электретоного эффекта. Наиболее последовательно определение электрета дается в терминах времени релаксации. Вещество называется электретом, если время исчезновения запасенной поляризации гораздо больше времени воздействия внешнего электромагнитного поля [35].

С целью исследования распространенности вируса гепатита С среди пациентов с ревматическими заболеваниями проведены традиционные (иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция) и перспективные методы диагностики HCV-инфекции.

Исследуемая группа включала 76 пациентов, имеющих суставной синдром. Из них 41 человек с ревматоидным артритом, 5 - с первичным синдромом Шегрена, 8 - с системным склерозом, 6 - с системной красной волчанкой, 11 - с реактивными артритами, в том числе 2 - с хламидийным артритом, 1 - с псориатической артропатией и 1 - с остеоартрозом.

Всего было выявлено 9 (11,8 %) HCV-положительных пациентов, из которых 5 страдали ревматоидным артритом, 2 - реактивным артритом, 1 - первичным синдромом Шегрена и 1 - хламидийным артритом. Все больные ревматоидным артритом и первичным синдромом Шегрена были сероположительными по ревматоидному фактору, у 2 пациентов РА был с системными проявлениями. Больные ревматоидным артритом имели развернутую рентгенологическую стадию заболевания со средней степенью активности, абсолютное большинство больных составили женщины. У всех пациентов, имеющих иммунную патологию, наличие HCV-антител могло быть ложноположительным. Этот факт в современных условиях предполагает использование специальных методик по осаждению иммуноглобулинов перед постановкой реакции на HCV, а также использование более чувствительной полимеразной цепной реакции. Однако в связи с достаточно высокой стоимостью данных исследований нами был применен самостоятельно разра-

ботанный, принципиально новый способ скрининг-обследования с помощью электретного анализатора.

Все сыворотки крови пациентов были подвергнуты электретному анализу, представляющему собой поляризацию исследуемой сыворотки в плоскопараллельной кювете с последующим изучением тока разряда образца.

Методика оригинальна. Научно-исследовательские и методические работы проводятся группой исследователей в Белорусском государственном медицинском университете на 2-й кафедре внутренних болезней; в Гомельском медицинском университете на кафедре биохимии; в Центре радиационной медицины и экологии г. Гомеля; в Гомельском отделе БелНИГРИ; в Минском производственном объединении вычислительной техники, выбранном в качестве базы по производству опытных образцов приборов.

Устанавливая в ходе экспериментов особенности протекающих в дисперсных системах процессов, зависящих от температуры, а также электролитного и белкового состава исследуемых биологических жидкостей, определяли оптимальную методологию изучения определенной дисперсной системы. Измерения электропроводности проводились в диапазоне 1500-60 000 Гц, что позволяло определить концентрацию электролитов крови и структурные изменения, связанные с наличием антигенов вируса гепатита С.

Анализатор дисперсных систем (АДС-1) - компьютеризированный программно-аппаратный комплекс, включающий в себя систему датчиков, персональный компьютер, блок воздействий, измерительный блок и экспертную систему. По своей сущности АДС-1 является информационным модулем, встраиваемым в любую систему автоматизированного контроля. Комплекс имеет свою собственную интегрированную интерактивную среду измерения, которая включает встроенные средства измерения, обработки, анализа данных и манипуляции ими, а также простой, доступный для быстрого освоения интерфейс с оператором, в основу которого положены самые современные принципы разработки интерактивного программного обеспечения. Измерительный

блок комплекса представляет собой персональный компьютер, соединенный с измерительным модулем через последовательный или USB-порт. Структурная схема прибора приведена на рис. 4.1, внешний вид - на рис. 4.2.

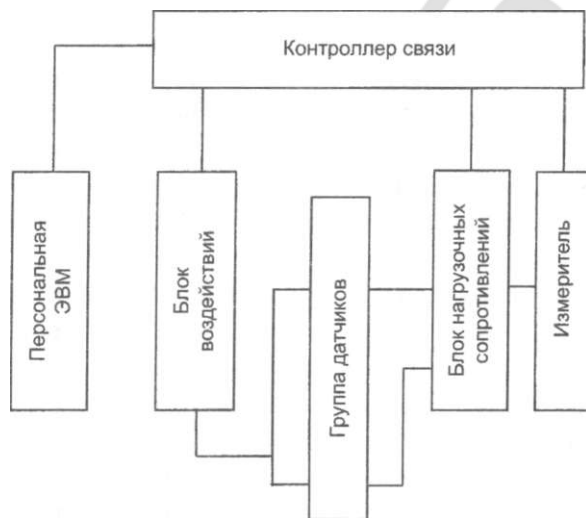


Рис. 4.1. Структурная схема анализатора дисперсных систем

Измерительный блок комплекса представляет собой ЭВМ-сателлит, при этом модель не влияет на точность и качество измерений.

При изучении свойств сыворотки крови методом изотермической деполяризации использовали методику варьирования условий поляризации, что предусматривало установление зависимости тока деполяризации I_Q от времени поляризации t_p и тока поляризации I_p . Прибор позволяет проследивать на экране и выводить на печать процессы заряда и разряда, происходящие в ячейке. На рис. 4.3 показана временная диаграмма напряжения на ячейке при ее заряде-разряде и схема измерения.

Устройство позволяет изучать электретиные свойства сыворотки крови в режиме термостимулированной деполяризации. При исследовании была обеспечена возможность визуальной идентификации токов заряда-разряда и контроль поступающих экспериментальных результатов с их промежуточной математической обработкой. Был также проведен расчет времени релаксации, дипольного момента частиц дисперсной фазы и единицы объема, фактора деполяризации, заряда частиц дисперсной фазы и их концентрации.

В целом прибор позволяет проводить дифференцированный контроль содержания в сыворотке крови различных веществ: нижний уровень определяемой концентрации составляет 0,03 % мае для белков и 0,01 % мае для электролитов.

Научная идея исследования заключалась в разработке теоретических и экспериментальных аспектов изучения электретного состояния сыворотки крови, выявлении взаимосвязей основных характеристик биоэлектретных свойств в зависимости от наличия в среде антигенов вируса гепатита С.

Измерительный модуль термоактивационной спектроскопии, реализованной в АДС-1, воздействует на исследуемый объект последовательностью токовых импульсов прямоугольной формы и измеряет отклик вещества в непрерывном и дискретном режимах.

Параметры последовательности импульсов (амплитуда A и длительность положительной и отрицательной полуволн T , пауза t) программируются оператором, причем сила тока варьируется от 10 мкА до 10 МА. В настоящей работе параметры были стандартизированы в каждом диапазоне.

Рабочий диапазон частот - 0-250 кГц. Шаг измерения и время измерения также задаются программно, $t_{mm} = 5$ мс. Блок воздействия поддерживает неизменный (постоянный или переменный) ток через ячейку при изменении сопротивления нагрузки до 1 МОм.

Исследуемая сыворотка в объеме 0,1 мл помещалась в измерительную ячейку между двумя плоскопараллельными электродами (рис. 4.4).

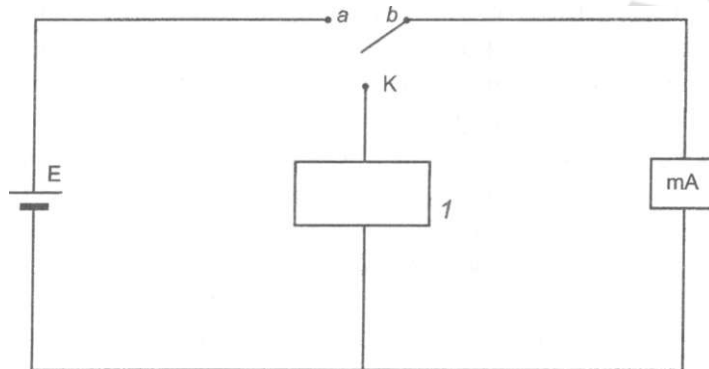


Рис. 4.4. Схема измерений методом деполяризации: E - источник тока; K - переключатель; 1 - ячейка с раствором; 2 - регистратор тока

При нахождении переключателя в положении *a* (см. рис. 4.4) на электроды подается постоянное напряжение от источника тока, образец при этом поляризуется. Это означает, что в нем создается пространственно неоднородное распределение носителей заряда, ориентация по полю полярных макромолекул и квазидиполей (поляризующихся в электрическом поле нейтральных мицелл). В результате раствор переходит из равновесного состояния в неравновесное (возбужденное) с некоторым запасом электрической энергии. После снятия внешнего поляризующего напряжения (переключатель в положении *б*) образец возвращается в первоначальное равновесное состояние, отдавая накопленную энергию.

Этот процесс не может произойти мгновенно - он протекает в течение некоторого времени разряда. При этом против сил внутреннего трения совершается работа по изменению пространственного расположения зарядов и по их нейтрализации. Процесс возвращения поляризованной жидко-дисперсной системы к начальному состоянию называется релаксацией и характеризуется временем релаксации t .

4.1. ФИЗИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ И ПРИНЦИП МЕТОДА ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ ДЕПОЛЯРИЗАЦИИ

Явление «запоминания» заряда и поляризации, характерное для электретов, найдено к настоящему времени во многих веществах и системах биологического происхождения. Электретный эффект является общим свойством биополимеров-полипептидов, полинуклеотидов и полисахаридов, являющихся важными составляющими биологических жидкостей человека [33].

Знание кинетики процесса деполяризации жидких сред позволяет контролировать их состав и структуру. Кривая зависимости тока деполяризации от времени имеет характерные признаки, совокупность которых определяется типом вещества.

Теория электрофизических явлений в сыворотке крови как дисперсной системе достаточно сложна. Не представляется возможным сколько-нибудь подробно и логически последовательно изложить весь ход рассуждений, приведших к основным ее выводам, поэтому в представленном ниже материале содержатся лишь важнейшие физические принципы, положенные в основу используемой методики [9, 27].

Согласно методике комплексных электрофизических исследований ток деполяризации является характеристикой структуры сыворотки крови, и кривая тока деполяризации имеет характерные отличия для каждого конкретного пациента [51].

В исследуемой сыворотке определяли удельную электрическую проводимость k , изменение ее во времени $k(t)$, скорость изменения электропроводности dk/dt , зависимость k от амплитуды переменного тока $k(A)$ и частоты $k(a>)$, эквивалентную (приведенную) электропроводность $X = k/c$ и зависимость ее от концентрации $X(c)$.

Все перечисленные электрофизические показатели имеют самостоятельный физический смысл и строгое теоретическое обоснование.

Ток деполяризации рассчитывается по формуле (1):

$$I(t) = \frac{dp}{dt} = \frac{P_0}{t'} e^{-t/t'} = I_0 e^{-t/t'}, \quad (1)$$

где I_0 и $I(t)$ – начальное и текущее значение тока деполяризации.

Ток поляризации (заряда ячейки) I_0 прикладывается в течение времени поляризации t_0 . По истечении этого времени ключ переключается в положение разряда, и по цепи течет ток деполяризации $I(t)$.

Как следует из формулы (1), по току деполяризации можно определить полный поляризационный заряд в момент t_1 (дипольный момент), если воспользоваться формулой (2):

$$P(t_1) = \int_{t_1}^{\infty} I(t) dt, \quad (2)$$

где P – дипольный момент непроводящей частицы в проводящей среде в объеме ячейки. По току деполяризации можно определить эффективное время релаксации.

Величина поляризационного заряда и эффективное время релаксации, являясь характеристиками процесса деполяризации, определяются составом и свойствами растворенных в сыворотке крови белков и молекул, а также их концентрацией.

Выражения (1) и (2) написаны для идеального случая, когда в исследуемой системе действует один механизм поляризации. Такой механизм характерен для средних молекул, находящихся в сольватной оболочке.

В реальных биологических жидкостях действует одновременно несколько поляризационных механизмов. Результирующее электрическое поле полученного короткоживущего электрета получается суммированием независимых электрических полей всех поляризационных компонентов, которым соответствует ток деполяризации.

Экспериментально показано, что сыворотка крови НСV-позитивных больных имеет на логарифмической кривой деполяризации

несколько отчетливо выраженных линейных участков. Это означает, что в общем процессе разряда системы в отдельные интервалы времени преобладающее влияние имеют те или иные структурообразующие механизмы, которые, соответственно, вносят основной вклад в деполяризацию образца.

Эксперименты показывают, что зависимость тока деполяризации от времени описывается эмпирической формулой, представляющей собой совокупность быстро и медленно меняющихся компонентов. На выделенных интервалах времени разряда один из членов последовательностей поочередно превышает по величине остальные. Ток деполяризации описывается выражением (3):

$$I = \sum_{i=1}^n I_{0i} \exp(-t/t'_i); \quad (3)$$

$$P = \sum_{i=1}^n \frac{P_{0i}}{t'_i} \exp(-t/t'_i).$$

Соответственно, формулы зависимости тока деполяризации от времени на участках ломаной кривой будут выглядеть следующим образом (4):

$$I_{0k} \exp(-t/t'_k); \quad Z_{0k} = -t/t'_k, \quad t_k < t < t_{k+1}; \quad (4)$$

$$P = \sum_{i=1}^n P_{0i} \exp(-t/t'_i) \rightarrow P_{0i} \exp(-t/t'_i), \quad t_1 < t < t_{k+1}.$$

Ток деполяризации, который в течении времени разряда регистрируется микроамперметром, становится характеристикой исследуемой сыворотки.

Полученная система уравнений позволяет построить график и анализировать его ломаную кривую. При этом на каждом ее линейном участке доступно определению локальное время релаксации, начало и конец интервала деполяризации.

С позиции математики в результате решения графическим способом системы уравнений кривая тока деполяризации каждой

сыворотки крови характеризуется рядом признаков, которые поддаются классификации: изгибами, прямолинейными участками, углами наклона и т. д. Каждый из регистрируемых признаков имеет свою частоту и значимость.

В программно-аппаратном комплексе метод деполяризации играет роль основного индикатора. Он дает качественную и количественную оценку сыворотки крови и определяет соответствие ее аналогу, не содержащему антигенов вируса гепатита С. Те или иные отклонения от нормы, а также все видоизменения кривой отражают изменения, происходящие в структуре сыворотки и в соотношении между собой основных ее компонентов: белковых комплексов и электролитов.

Вид кривой деполяризации зависит от степени выраженности воспалительных изменений в сыворотке крови. Характерным признаком этой кривой является наличие нескольких четко выраженных линейных участков. Это свидетельствует о присутствии в системе нескольких релаксационных подсистем или групп гетерогенных белковых молекул.

Общая формула удельной электрической проводимости:

$$\kappa = nqU,$$

где n - концентрация носителей заряда в веществе, q - заряд носителя, $U = v/E$ - подвижность носителя (E - напряженность электрического поля, v - его скорость). Формула получена без каких-либо ограничений равномерности поля и однородности среды, применима к элементарному объему и случаю переменного поля.

Зависимости электропроводности сыворотки крови от различных факторов имеют значительно более сложный вид, чем при исследовании растворов электролитов. Поэтому при изучении и контроле различных сывороток крови, серопозитивных по HCV, используют в основном величину эквивалентной электропроводности или - в случае различных веществ неустановленного биохимического состава - относительной (приведенной) электропроводности.

Для сыворотки крови имеет место следующая формула (5):

$$\kappa = \kappa'_0 \quad (5)$$

где κ'_0 - предельная эквивалентная электропроводность при бесконечном разбавлении, b - константа, которая иллюстрирует закон Кольрауша.

Теория электретного анализа позволила объяснить многие эффекты поведения кривой измерения, а также установить зависимость электропроводности от амплитуды тока воздействия. Это стало возможным потому, что измерения электропроводности можно выполнить с высокой точностью, позволяющей выделить даже самые малые отклонения графика регистрируемых кривых в зависимости от присутствия антигенов вируса гепатита С.

В современных теориях электропроводности помимо конечных размеров ионов учитывают взаимодействие между собой релаксационного и электрофоретического эффектов, локальные изменения вязкости вблизи ионов и несимметричность концентраций в изменяющейся ионной оболочке [24].

Подчеркнем, что несмотря на большую сложность формул в отдельных случаях, все они находят конкретное практическое применение.

Критерия, позволяющего отдать предпочтение какой-либо теории, не существует. Чаще всего используют формулы (3) или (4) в зависимости от конкретной задачи - определения антигенов вируса или электролитного состава сыворотки крови.

Отметим различия между методом электропроводности и реологическими методами. Неявно предполагается, что среда не взаимодействует физико-химически с носителями заряда. Однако введение уже малых количеств ионов простых электролитов может значительно изменить толщину двойного электрического слоя (а следовательно и эффективный радиус молекул, величину поверхностного заряда частицы), вызвать экранировку отдельных участков макромолекулы и т. д. Это означает существенное изменение заряда q при практически неизменной вязкости среды.

Таким образом, сыворотка крови ведет себя одновременно и как дисперсионная среда, и как гетерогенная система, более четко реагирующая на происходящие в измерительной ячейке изменения.

Чаще всего исследования полиэлектролитов и дисперсных систем рассматривают как продолжение исследований обычных электролитов, так как для оценки их свойств применяют те же критерии. Поэтому для определения свойств сыворотки крови следует использовать приведенную электропроводность κ/c по аналогии с эквивалентной электропроводностью κ' .

Измерения электропроводности позволяют быстро и эффективно осуществлять контроль сыворотки крови на наличие неструктурных белков HCV. Для описания изменений в сыворотке, содержащей атипичные антигены, возможно применение формулы (6), которая учитывает основные положения кинетической теории:

$$\kappa = \kappa'_0 + a \exp(-b \cdot c), \quad (6)$$

где a , b , - константы, характерные для данного типа растворимых молекул неструктурных белков, которые нужно выделить и исследовать в максимально очищенном состоянии. Данные исследования могут быть основой для другой самостоятельной работы.

Анализ сывороток крови по электрофизиологическим свойствам включает в себя: измерение и первичную обработку данных; текущий анализ представленных данных, их преобразование и построение графиков; сравнение полученных данных и графического изображения с эталоном, отметку об отличиях; количественную оценку и определение соответствия допустимым пределам.

4.2. ДОСТОИНСТВА ПРЕДЛАГАЕМОГО МЕТОДА

Основные достоинства предлагаемой методики заключаются в следующем:

- 1) для исследования требуются малые количества образца (0,1 мл);
- 2) анализ проводится за короткое время (10-20 с);
- 3) не требуются дефицитные дорогостоящие реагенты;
- 4) составление информационного банка данных по обследуемым группам населения возможно в автоматическом режиме;
- 5) используется метод сопоставления с эталоном (нормой);
- 6) проводится статистическая обработка данных;
- 7) для исследования применяется портативное оборудование (в комплекте с компьютером типа Notebook).

Согласно методу комплексных электрофизиологических исследований, который реализует анализатор дисперсных систем АДС-1, для контроля состояния сыворотки крови служат следующие параметры: удельная электрическая проводимость, ее изменение во времени, скорость изменения электропроводности, зависимость электропроводности от частоты поля в диапазоне частот, зависимость удельной электропроводности - от амплитуды переменного тока; ток деполяризации, его логарифм, эффективное время релаксации и фактор деполяризации (величина, коррелирующая с вязкостью системы).

Измерение данных величин позволяет контролировать концентрацию, размер и дипольный момент частиц дисперсионной среды, электрический заряд, концентрацию и тип полимеров, содержание электролитов.

Математическая обработка включает до восьми этапов предварительной и постобработки с использованием различных видов интерполяций, сглаживания, регрессионного анализа. Таким образом, решается важная задача любого эксперимента - выдвигается гипотеза о виде аналитической зависимости. Затем ее проверяют и корректируют условия эксперимента.

Для преобразования графика используется заранее составленный набор эталонных сегментов, позволяющий проводить таким образом прямое количественное сопоставление текущей и эталонной кривых. Стандартная математическая обработка с использованием метода сегментарной регрессии позволяет в значительной степени избежать субъективизма в обработке данных.

Работа программно-аппаратного комплекса организуется следующим образом: 1) пакет прикладных программ осуществляет необходимые измерения и формирует файлы; 2) производится разбиение регистрируемых кривых тока деполяризации на классы в соответствии с установленными параметрами.

Экспериментальное наблюдение релаксационного тока в изученных биологических жидкостях человеческого организма и определение особенностей их деполяризации дает все основания классифицировать их как короткоживущие электреты.

С физической точки зрения наличие отчетливо выраженных прямолинейных участков на кривой $I_p(t)$ указывает на присутствие индивидуально поляризующихся и поочередно деполяризующихся подсистем с собственным уровнем разряда. Анализируя кривую тока деполяризации, необходимо учитывать, что существующие на ней участки, изгибы представляют собой некоторую совокупность признаков, соотносящихся с компонентным составом и структурой вещества. Изменение формы кривых деполяризации однозначно информирует о структурных изменениях в исследуемой системе. Специально проведенными экспериментами доказана высокая точность (85-90 %) определения компонентного состава и структуры сложных систем. Математическая обработка кривых позволила выделить значимые и точно классифицируемые факторы, на основе которых построены базы данных о свойствах кривых деполяризации. Любой биологический материал, находящийся в растворе, вносит свой вклад в общую деполяризацию в зависимости от его конформационной организации (степени дисперсности, концентрации, наличия гидратной оболочки).

Таким образом, изотермическая деполяризация относится к методам предельно низкочастотной диэлектрической спектроскопии. Результатом анализа является спектральная характеристика вещества, отображаемая в виде гистограмм. С практической точки зрения изменение биохимического состава жизненно важных сред организма при внешних воздействиях, в том числе при заболеваниях, ведет к изменению релаксационных механизмов.

Классифицируя наблюдаемые изменения, количественно оценивая регистрируемые отклонения от эталона, мы использовали электретные свойства сыворотки крови для диагностики различных патологических состояний.

4.3. МЕТОДИКА АВТОМАТИЧЕСКОГО ОПИСАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ КРИВЫХ ТОКА ДЕПОЛЯРИЗАЦИИ

В данном исследовании для оценки результатов электрофизиологического исследования мы использовали лингвистический анализ, который объединяет теорию вероятности, математическую статистику, теорию подобия и последние разработки в области линейного регрессионного анализа [7]. Являясь одной из самых молодых и бурно развивающихся областей прикладной математики, лингвистический анализ не имеет на сегодняшний день общепринятой теоретической модели. Нами предпринята попытка на уровне простейшего наглядного представления изложить лишь основные принципы использования данной теории в оценке экспериментальных данных.

Результаты измерений методом изотермической деполяризации представляются в виде графиков, что удобно для визуального анализа.

При анализе данной кривой важную роль играет гипотеза о характере распределения информации вдоль нее (т. е. структура кривой). Если информация распределена равномерно, то анализу под-

вергается сразу вся кривая. При этом используются интегральные методы. Если же значимая информация локализована в некоторых, относительно небольших участках, то применяются специальные методы структурной обработки.

Одним из самых перспективных методов структурной обработки данных является лингвистический. Он был успешно использован для распознавания рукописных букв и графических изображений.

Суть применения этого метода к графикам кривых состоит в следующем:

1. На каждой кривой выделяют информативные участки, называемые сложными. Получают множество таких участков.

2. Множество сложных сегментов разбивают на классы. Каждый из них заменяют усредненным эталонным сегментом и именуют с помощью символов или индексов, которые играют роль «букв» в некотором «алфавите».

3. От наглядного дискретного описания переходят к сжатому описанию кривой, заменяя ее последовательностью «букв». Таким образом кривая заменяется «словом» некоторого языка.

Каждая новая кривая после преобразования ее стандартным образом в «слово» сравнивается со «словами» в «словаре», и выделяется эталонная кривая, которая наиболее близка по форме или совпадает с кривой, характерной для сыворотки крови больного, инфицированного вирусом гепатита С. Исследуемая кривая относится к данному выделенному классу.

Заметим, что описанная последовательность действий при обработке графиков в целом аналогична действиям исследователя.

Принципиально возможны два подхода к реализации лингвистического метода обработки графиков кривых.

Подход 1. Для преобразования графика кривой в «слово» используют заранее составленный опытным экспертом набор эталонных сложных сегментов, который применяется для выделения и классификации кривых.

По сути дела упоминавшаяся ранее идентификационная таблица метода деполяризации - один из вариантов использования

этого подхода при неавтоматизированном измерении. Основным его недостатком в этом случае является потребность в опытном эксперте, а также необходимость строить заново набор эталонных сложных сегментов для каждого нового типа кривых и невозможность автоматизировать этот процесс. Отсюда и невозможность использовать систему для обработки экспериментальных кривых плохо изученных процессов.

Подход 2. Словарь эталонов строится автоматически с использованием принципов обучающейся системы. Этот подход имеет следующие преимущества:

- 1) независимость результатов обработки данных от субъективных оценок эксперта;
- 2) независимость от типа обрабатываемых графиков и возможность быстро перестраиваться с одного типа на другой;
- 3) возможность полной автоматизации обработки кривых в программно-аппаратных комплексах измерения.

С учетом изложенного при разработке экспертной системы используется подход 2.

Как отмечалось выше, кривая логарифмической деполяризации имеет линейные и нелинейные участки, расположение и вид которых напрямую связаны со структурой исследуемых веществ. Опишем процесс выделения классификационных признаков.

На кривой тока деполяризации выделяли небольшие участки, в которых она «сильно изменяется». С их помощью кривая делится на сегменты, на которых ведет себя «плавно» и сегменты, на которых «сильно изменяется». Процесс разделения кривой на такие участки назван сегментацией, а участки, с помощью которых сегментация осуществляется, называются сложными (переходными) сегментами. Таким образом, задачу сегментации можно понимать как задачу выделения на кривой сложных сегментов.

Сложные сегменты можно интерпретировать как моменты смены состояний процесса, который характеризуется кривой. Изменчивость и сложность формы являются основными при-

знаками сложного сегмента и задача его определения и построения сводится к формализации представления об «изменчивом и сложном».

Понятие сложного сегмента не использует какие-либо заранее заданные эталоны и является формализацией интуитивно понятных и визуально легко различимых образов «простой» и «сложной» формы кривой на сегменте, т. е. имеется принципиальная возможность построения различных алгоритмов выделения сложных сегментов с помощью простого изменения алгоритма вычисления значения функции сложности для этого сегмента.

Используя описанный выше алгоритм классификации, производили обучение системы. Следует уточнить, что она в любом случае отнесет любую из предъявляемых ей зависимостей к той или иной эталонной кривой, хранящейся в памяти компьютера. Правильность или ошибочность заключения будет зависеть от чистоты проведения эксперимента.

4.4. КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ АДС-1

Методом изотермической деполяризации предварительно были исследованы сыворотки крови HCV-положительных и HCV-отрицательных пациентов с целью выявления их деполяризационных различий.

Как представлено на рис. 4.5, кривые тока деполяризации у HCV-положительных и HCV-отрицательных пациентов отличаются, что делает перспективным продолжение работ по клиническому применению электретоного анализа.

Полученные данные внесены в специализированную экспертную систему, реализованную в АДС-1, которая позволяет оценить вновь поступающие данные путем сопоставления их с базой данных методом оценки отклонений от среднего. Это может использоваться в дифференциальной диагностике заболеваний по релаксационному спектру исследуемых сывороток.

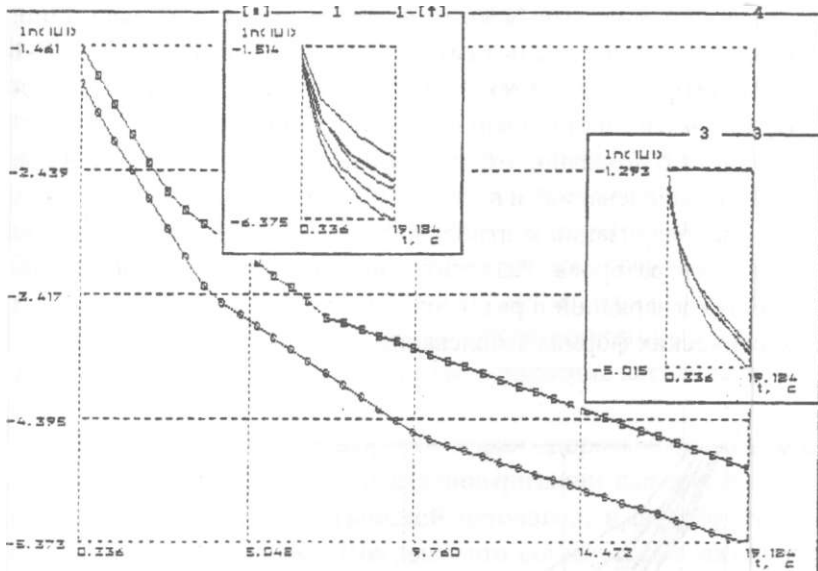


Рис. 4.5. Усредненные кривые тока депольаризации у HCV-положительных (верхняя кривая) и HCV-отрицательных (нижняя кривая) пациентов

Используя способ вычитания сигнала эталона (здоровые) из активного сигнала, возможно выделение групп по родственным признакам вида кривых. Дальнейшая интерпретация, по-видимому, окажет помощь в систематизации и классификации некоторых патогенетически близких заболеваний по электретным свойствам.

Индивидуальные параметры (коэффициенты) экспоненциального разложения для больных людей устойчиво выходят за пределы интервала допустимых значений, зарегистрированных для контрольной группы, а различия в биохимическом составе сывороток крови ведут к изменению релаксационных механизмов, отображаемых кривой тока заряда-разряда в среде электрета. Нами установлено, что такие биологические жидкости, как слюна и моча, также дают хорошо воспроизводимые индивидуальные «отклики» на внешнее поляризующее воздействие электрического импульса

определенной формы в режиме изотермической деполяризации. Полученные результаты показывают, что при применении АДС-1 создаются хорошие возможности для дифференциальной диагностики, систематизации и оценки прогноза заболеваний.

На рис. 4.6 показано, что данные зависимости изменяются при различных заболеваниях и всегда отличаются от вида усредненных кривых деполяризации контрольной группы (16 человек) с учетом допустимого разброса. Различия в поляризационных кривых наблюдаются в зарядной и разрядной частях спектра при различных нозологических формах заболевания.

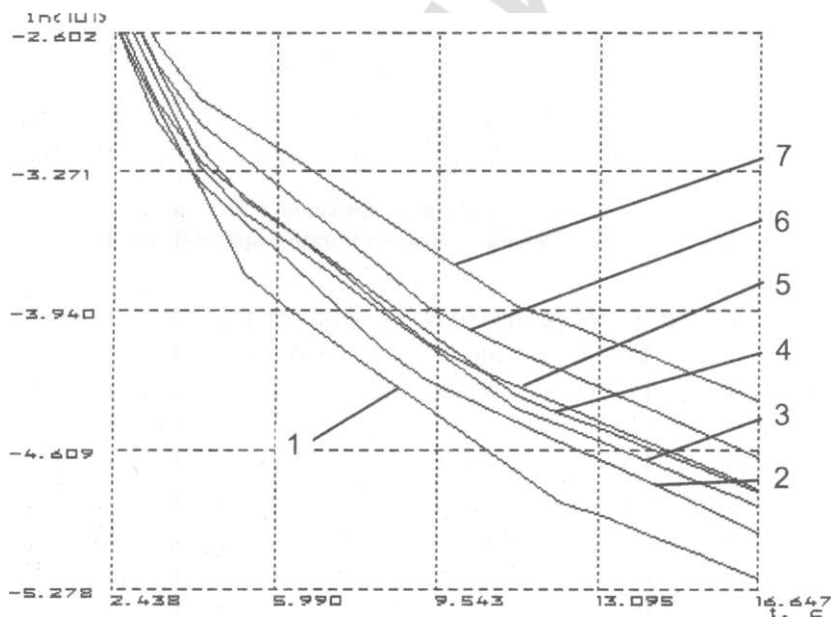


Рис. 4.6. Ток деполяризации при различных заболеваниях в сравнении с контролем: 1 - здоровые; 2 - ревматоидный артрит (ревматоидный фактор+); 3 - системная красная волчанка; 4 - системный склероз; 5 - ревматоидный артрит + остеоартроз; 6 - ревматоидный артрит (ревматоидный фактор-); 7 - первичный синдром Шегрена

Нами отмечено, что на кинетику деполяризации помимо нозологической формы влияет возраст больных и степень активности заболевания. Так, более значимые отклонения от нормы при системной красной волчанке наблюдаются в раннем возрасте (17 лет), при максимальной активности заболевания и практически нивелируются в более позднем возрасте, при хроническом, не активном, доброкачественном течении заболевания. Данные сведения могут быть использованы по двум направлениям: во-первых, для составления прогноза болезни, во-вторых, для объяснения приближения усредненной кривой логарифмической деполяризации к контрольной линии (см. рис. 4.6), что отражает снижение активности заболевания.

Ток деполяризации сыворотки крови здоровых людей имеет существенные отличия от тока деполяризации сывороток крови при различной ревматологической патологии, в первую очередь при первичном синдроме Шегрена, что согласуется с литературными данными о выраженности иммунных реакций при данном заболевании.

Измерения электропроводности позволяют быстро и эффективно осуществлять контроль сыворотки крови на наличие неструктурных белков HCV. Анализатор работает с банком данных, накапливаемых пользователем. Банк данных формируется в виде файлов путем измерения электрофизиологических свойств сывороток, моделирующих те или иные изменения компонентного состава. Моделируя в лабораторных условиях последовательно этапы изменения концентрации электролитов или величину вирусной нагрузки сыворотки крови, комплекс формирует набор эталонных файлов в виде кривых. Предельные кривые, соответствующие определенной концентрации, создают область оптимальных значений.

Последовательность действий при измерении следующая: измеренные характеристики сывороток крови серонегативных и серопозитивных по HCV пациентов вносятся в банк данных, в группу файлов с показателями, измеренными в экспериментальных условиях. Далее проводится анализ и сравнение полученной

кривой с кривыми тока деполяризации пациентов, не имеющих в крови вируса гепатита С. При этом выделяют наиболее наглядные относительные видоизменения кривой тока деполяризации, которые имеют физический смысл и подразумевают конкретное клиническое значение. Это является основой для дальнейшего построения физической модели происходящих в сыворотке структурных превращений и получения ее конкретных количественных характеристик.

Общий подъем кривой деполяризации при сохранении ее вида означает увеличение площади подинтегральной кривой и, следовательно, увеличение общего поляризационного заряда. Оно может быть обусловлено ростом концентрации элементарных диполей (т. е. общего белка или вирусной нагрузки); увеличением толщины или избыточным образованием гидратных оболочек.

Кривая логарифмов деполяризации $\ln(\tau)$ сложного вида может состоять из нескольких отдельных прямолинейных участков. Если i - угол наклона прямой к оси абсцисс, то эффективное время релаксации рассчитывается по формуле (9):

$$t' = 1/tg i. \quad (9)$$

Уменьшение угла наклона прямолинейного участка к оси абсцисс означает увеличение времени релаксации соответствующего поляризационного процесса, что связано с увеличением размеров поляризующихся объектов при росте сольватных оболочек, образовании агрегатов из частиц, сшивании макромолекул, а также с повышением эластичности межмолекулярных связей в сыворотке.

При общем сохранении вида исходной кривой смещение ее вниз, ниже оси абсцисс, в отрицательные значения, связано с увеличением электропроводности дисперсионной среды.

Наличие изломов и нескольких линейных участков на кривой логарифмической деполяризации означает, что в растворе существует несколько четко выраженных поляризующихся подсистем. Эти системы относятся к конкретным структурообразующим компонентам, и преобладание разряда какой-либо из них в выде-

ленный интервал времени говорит об их различной физической природе, например, физиологический раствор имеет только одну или две области разряда (при доверительном интервале линеаризации $P < 0,05$ линейные участки разделены небольшим изломом). В то же время появление трех и более линейных участков означает наличие развитой пространственной структуры у изучаемой сыворотки крови.

Недостатком данной процедуры анализа является очевидная субъективность выделения информативных участков на кривых, его зависимость от квалификации исследователя.

В АДС-1 реализована стандартизованная автоматическая классификация кривых деполяризации методами лингвистического анализа, позволяющая провести единообразную оценку единообразно измеренных экспериментальных данных. Эта процедура играет роль своеобразной «программной стрелки», направляющей действия исследователя в правильное русло.

На рис. 4.7. представлена диаграмма распределения заряда в сыворотке крови НСV-положительных пациентов с ревматоидным

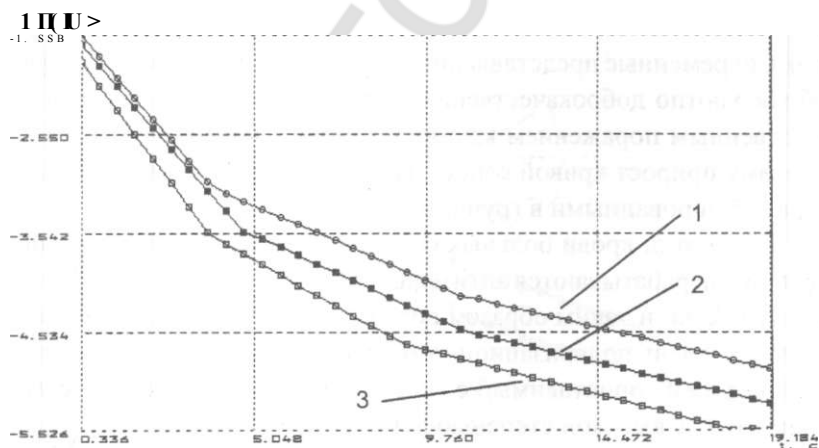


Рис. 4.7. Кривые тока деполяризации НСV-положительных пациентов с ревматоидным (1) и реактивным (2) артритами, а также здоровых лиц (3)

и реактивным артритам, продемонстрировано несоответствие распределения заряда норме.

Ток деполяризации у HCV-положительных пациентов имеет более высокие значения при ревматоидном артрите, чем при реактивном. При обоих заболеваниях ток деполяризации значительно превышает нормальные величины, что, по-видимому, связано с различным составом сыворотки крови и преобладанием при ревматоидном артрите крупных молекул IgM, препятствующих быстрой деполяризации сыворотки у больных с иммунной патологией.

Как следует из рис. 4.7, различные заболевания вызывают изменение общего поляризационного заряда (прироста) в сравнении с контролем. Причем общий прирост при хроническом гепатите С с высокой активностью составляет 20 %, при остеоартрозе - 5-7 %, а при системном склерозе зарегистрировано уменьшение заряда относительно контроля. Данный факт согласуется с общеклинической трактовкой системного склероза как системного заболевания соединительной ткани со значительным нарушением микроциркуляции, индурацией и атрофией кожных покровов, общим снижением биологического обмена, формированием маскообразного лица и значительным охлаждением кистей рук (синдром Рейно). Современные представления об остеоартрозе свидетельствуют об абсолютно доброкачественном течении заболевания с преимущественным поражением крупных суставов (чаще суставов ног), поэтому прирост кривой сопоставим с нормальными величинами, зарегистрированными в группе контроля.

Сыворотки крови больных системной красной волчанкой, при которой вырабатываются антитела к собственному ядерному материалу клетки и таким образом поражаются все органы и системы, имеют уровень поляризационного заряда, значительно превышающий норму и сопоставимый с уровнем прироста при хроническом гепатите С с высокой степенью активности .

По нашим данным, наличие в сыворотке крови крупных молекул в большей степени отвечает за кинетику разряда. Так, при исследовании на электретоном анализаторе сывороток крови больных

ревматоидным артритом с HCV-положительной и HCV-отрицательной реакциями мы обнаружили минимальные отличия кривых между собой в средней и нижней частях спектра (рис. 4.8). Данный факт может свидетельствовать в пользу применения метода электрического анализа для диагностики различных нозологических форм заболеваний, а также для верификации вирусного гепатита С.

У всех пациентов было подтверждено наличие РНК вируса гепатита С. Двое больных клинически имели серонегативный реактивный артрит и гепатит. В исследовании не участвовали HCV-положительные пациенты с серонегативным ревматоидным артритом, однако серологическое обнаружение в данном случае вируса гепатита С может с большой вероятностью свидетельствовать о наличии сопутствующего заболевания, дающего в той или иной степени вторичный суставной синдром.

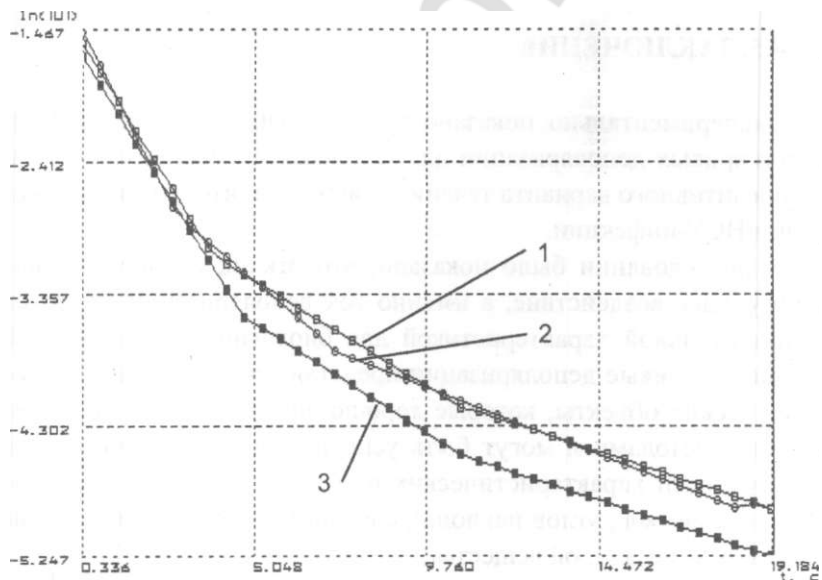


Рис. 4.8. Кривые тока деполаризации HCV-положительных (1) и HCV-отрицательных (2) пациентов с ревматоидным артритом, а также здоровых лиц (3)

Таким образом, в основе работы анализатора лежит принцип наложения электромагнитного возмущения на вещество в замкнутом объеме с последующей регистрацией и изучением отклика среды. Апробированный метод позволяет идентифицировать растворимые антигены вируса гепатита С в сыворотке крови больных с ревматическими заболеваниями.

В биомедицинских целях АДС-1 служит также для определения и классификации аномалий в состоянии биологических сред человеческого организма. Достоинствами предлагаемой методики в данном случае служат экспрессность анализа, автоматическое составление информационного банка данных по обследуемым группам больных, малый объем исследуемой сыворотки крови, необходимой для анализа (0,1 мл), и отказ от применения остродефицитных химических реагентов.

4.5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментально показано существование разных групп и видов кривых деполяризации для заболеваний серонегативного и серопозитивного варианта течения ревматоидного артрита при наличии HCV-инфекции.

В исследовании было показано, что отклик на внешнее поляризующее воздействие, а именно ток деполяризации, является индивидуальной характеристикой для биологических жидкостей человека. Кривые деполяризации представляют собой визуально-графические объекты, которые хорошо анализируются автоматическими методами и могут быть успешно классифицированы по совокупности характеристических признаков (изгибов, прямолинейных участков, углов наклона), соотносящихся с компонентным составом и структурой вещества.

Компьютерная обработка позволяет выделить значимые и точно классифицируемые факторы, на основе которых возможно построение базы знаний для экспертных систем. Это служит пред-

посылкой создания аппаратуры для ранней диагностики заболеваний, в связи с чем необходимо дальнейшее совершенствование баз знаний путем их дифференцирования по активности заболевания, возрасту и полу.

Выяснено, что в зависимости от нозологической формы заболевания кривые деполяризации отчетливо различаются между собой. Вместе с тем установлено, что разброс данных относительно среднего показателя является самостоятельным информативным классифицирующим фактором, который может быть учтен при статистическом анализе. Разброс данных зависит «функционально» от нозологической формы заболевания и служит критерием дифференциальной диагностики ревматологических заболеваний и предпосылкой для выявления HCV-инфицированных пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предположение о наличии нераспознанной вирусной инфекции остается актуальным в случае заболеваний без четко установленного этиологического фактора. В последнее время в литературе вновь активно разворачиваются дискуссии по известному вопросу о роли вирусов в генезе ревматических заболеваний. Характер распространения хронических вирусных гепатитов, склонность к возникновению их эпидемий, реальность заражения ими при половых контактах, возможность индукции системных заболеваний соединительной ткани позволяют считать сочетание вирусных поражений печени и ревматических болезней сложной патологией, а ее комплексное изучение и профилактику - актуальной проблемой.

Количество инфицированных вирусом гепатита С растет из года в год, опережая темпы распространения ревматической патологии. Даже если этот вирус не является этиологическим фактором ревматических заболеваний, современной медицине приходится

считаться со все большим числом парентеральных гепатитов, модифицирующих течение ревматических заболеваний.

Согласно результатам проведенного исследования, наличие хронического гепатита С при ревматической патологии приводит к более доброкачественному течению полиартрита, с одной стороны, но к субклиническому прогрессирующему развитию фиброза печени, с другой.

При ревматических заболеваниях методами молекулярной диагностики установлена тропность вируса гепатита С к печеночной и почечной тканям. Его неструктурные белки обнаружены в ткани легкого и лимфоцитах периферической крови. Вирус гепатита С не идентифицирован в нейтрофилах крови и в слюне больных с достоверным клиническим диагнозом хронического гепатита С.

По причине малосимптомности хронического гепатита С больные с системными заболеваниями соединительной ткани в абсолютном большинстве случаев даже не предполагают о наличии у них вируса гепатита С. В ряде случаев пациентам с высокой степенью активности основного заболевания без предварительной серодиагностики на вирус гепатита С назначаются экстракорпоральные процедуры, при проведении которых до настоящего времени не решены вопросы одноразового использования сложных компонентов оборудования.

Обширный спектр аутоантител при ревматических заболеваниях не позволяет для верификации вируса гепатита С в крови ориентироваться на данные только иммуноферментного анализа и диктует необходимость комплексной оценки маркеров гепатита С. Сложности диагностики данного заболевания, привлечение дорогостоящих методик детекции вируса в крови подтолкнули к созданию доступных скрининговых тест-систем. К ним относится разработанный нами метод оценки деполяризационных потенциалов и аппаратура для его проведения.

Апробированный метод изотермической термодеполяризации позволяет проводить экспресс-оценку сывороток крови больных ревматическими заболеваниями для выявления антигенных струк-

тур вируса гепатита С. Установлено, что в зависимости от нозологической формы заболевания и наличия HCV-инфекции кривые деполяризации отчетливо различаются между собой. Различие электрофизиологических свойств сывороток крови может служить дополнительным критерием дифференциальной диагностики ревматических заболеваний.

Морфологическая оценка биоптатов в настоящее время - необходимое условие для окончательного суждения о заинтересованности печеночной ткани при системном поражении, отмечающемся при ревматической патологии. Визуализация неструктурных белков вируса гепатита С возможна только при морфологическом исследовании биоптатов или цитологическом исследовании концентрата лимфоцитарных клеток, полученных у пациентов с сочетанной патологией. Молекулярная диагностика позволила зафиксировать наличие вируса гепатита С в ядрах и цитоплазме гепатоцитов и купферовских клеток, билиарном эпителии, лимфоидной ткани. По морфологическим признакам при ревматической патологии наличие гепатита С верифицируется как неспецифический воспалительный процесс в печеночной ткани.

Таким образом, на большом клиническом материале оценена роль вируса гепатита С в развитии ревматических заболеваний. В результате исследования разработан метод идентификации вируса гепатита С путем исследования электрентных свойств сыворотки крови. Патент РБ 3764.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Апросина, З.Г. Аутоиммунный гепатит / З.Г. Апросина // Вирусные гепатиты, достижения и перспективы. - 1998. - № 3-4. - С. 12-21.
2. Апросина, З.Г. Хронические диффузные заболевания печени (современные тенденции) / З.Г. Апросина // Клинич. фармакология и терапия, - 1996,-№ 1.-С. 14-18.
3. Асфандиярова, Н.С. Взаимоотношения системы иммунитета, циклических нуклеотидов и простагландинов при заболеваниях печени вирусной природы / Н.С. Асфандиярова, А.Д. Дустов // Проблемы гастроэнтерологии. - 1992. - № 1. - С. 56-62.
4. Борисова, В.В. Системная красная волчанка, этиологически обусловленная вирусами гепатита В и С / В.В. Борисова, П.Е. Крель // Терапевт, арх. - 1992. - Т. 64, № 11. - С. 92-93.
5. Братанова, М.З. Эволюция и прогноз болезни Рейтера / М.З. Братанова // Рос. ревматология. - 1998. — № 3. - С. 15-19.
6. Вест, С.Дж. Секреты ревматологии: пер. с англ. / С.Дж. Вест. - М.; СПб.: БИНОМ; Невский Диалект, 1999. - 768 с.
7. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. - М.: Практика, 1999.-459 с.

8. Григорьев, П.Я. Клиническая гастроэнтерология: учебник для студентов мед. вузов, врачей и курсантов учреждений последиплом. образования / П.Я. Григорьев, А.В. Яковенко; Рос. гос. мед. ун-т. - М.: МИА, 2001. - 704 с.

9. Гринальх, Т. Основы доказательной медицины / Т. Гринальх. - М.: ГЭОСТАР-МЕД, 2004. - 240 с.

10. Дусмуратов, А.М. Пункция иод контролем эхографии - профилактика осложнений и повышение эффективности / А.М. Дусмуратов, Н.Ш. Юлдашева, Х.А. Хапизов // Ультразвуковая диагностика. - 1998. - № 4. - С. 14-19.

11. Егорова, О.Н. Система интерферона при ревматических заболеваниях / О.Н. Егорова, Р.М. Балабанова // Клиническая ревматология. - 1993, - № 2. - С. 51-54.

12. Ефимцева, Т.К. Клинические испытания противоревматических препаратов / Т.К. Ефимцева // Укр. ревматол. журн. - 2002. - № 4. - С. 8-11.

13. Ивашкин, В.Т. Болезни суставов. Пропедевтика, дифференциальный диагноз, лечение / В.Т. Ивашкин, В.К. Султанов. - М.: Литтерра, 2005. - 544 с.

14. Использование интерферона в комплексной терапии ювенильного ревматоидного артрита / М.Ю. Щербакова [и др.] // Терапевт. арх. - 1994. - Т. 61, № 5. - С. 36-40.

15. Использование полимеразной цепной реакции в обнаружении вируса гепатита С / Н.А. Федоров [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 1995. - № 4. - С. 23-27.

16. Каратеев, А.Е. Омепразол и мезонростол при НПВП-индуцированных гастропатиях: сравнение эффективности при коротком курсе лечения / А.Е. Каратеев, Ю.В. Муравьев // Клинич. медицина. - 2001. - Т. 79, № 5. - С. 48-50.

17. Клинико-генегические аспекты ревматических болезней / Л.И. Беневоленская [и др.]. - М.: Медицина, 1989. - 224 с.

18. Ключарева, А.А. Инфекции с парентеральным механизмом передачи / А.А. Ключарева // Актуальные проблемы профилактики вирусных инфекций с парентеральным механизмом передачи: сб. тр. - Минск, 1995. - С. 7-37.

19. Ключарева, А.А. Лечение хронических вирусных гепатитов: учеб. пособие / А.А. Ключарева; БелГИУВ. - Минск, 2006. - 18 с.

20. Ключарева, А.А. Парентеральные вирусные гепатиты: этиология и специфическая лабораторная диагностика: пособие для практических врачей / А.А. Ключарева. - Минск: БГИУВ, 1999. - 16 с.

21. Коломиец, Н.Д. Лабораторная диагностика вирусных инфекций с парентеральным механизмом передачи / Н.Д. Коломиец, А.Г. Коломиец // Актуальные проблемы профилактики вирусных инфекций с парентеральным механизмом передачи: сб. тр. - Минск, 1995. - С. 38-55.
22. Лечение и реабилитация больных ревматоидным артритом в амбулаторных условиях: метод, рекомендации / МГМИ; сост. М.В. Зюженков [и др.]. - Минск, 2001. - 37 с.
23. Логинов, А.С. Иммунная система и болезни органов пищеварения / А.С. Логинов, Т.М. Царегородцева, М.М. Зотина. - М.: Медицина, 1986.-256 с.
24. Маскаренас, С. Биоэлектреты: электреты в биоматериалах и биополимерах / С. Маскаренас // Электреты. - М.: Мир, 1983. - С. 400—431.
25. Маянский, Д.Н. Хроническое воспаление / Д.Н. Маянский. - М.: Медицина, 1991.- 195 с.
26. Метод, рекомендации по проведению работ в диагностических лабораториях, использующих метод полимеразной цепной реакции. Основные положения / сост. В.В. Покровский [и др.]. - М., 1995. - 20 с.
27. Методы и модели анализа данных: OLAP и Data Mining / А.А. Барсегян [и др.]. - СПб.: БХВ-Петербург, 2004. - 336 с.
28. Насонов, Е.Л. Базисная терапия ревматоидного артрита в ранней стадии / Е.Л. Насонов, Я.А. Сигидин // Терапевт, арх. - 1996. - № 5. - С. 5-8.
29. Насонов, Е.Л. Фармакотерапия ревматоидного артрита с позиций доказательной медицины: новые рекомендации / Е.Л. Насонов // Рус. мед. журн. - 2002. - Т. 10, № 6. - С. 294-301.
30. Опыт лечения поражений гастродуоденальной и гепатобилиарной систем у больных с ревматическими заболеваниями / А.С. Свиницкий [и др.] // Врачеб. дело. - 1989. - № 1. - С. 75-79.
31. Отчет о лабораторно-экспериментальном изучении тест-системы для выявления РНК вируса гепатита С методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции / Министерство здравоохранения РФ. - М., 1999,- 10 с.
32. Подымова, С.Д. Аутоиммунные заболевания печени: связь с другой аутоиммунной патологией / С.Д. Подымова, А.О. Буеверов // Терапевт, арх. - 1993. - Т. 65, № 2,- С. 36-41.
33. Поляризационные характеристики наполненных гелей на основе поливинилового спирта / И.Ю. Ухарцева [и др.] // Пласт, массы. - 1998. - № 6. - С. 40-42.
34. Поражения печени и желчных путей при ревматических заболеваниях / А.П. Пелешук [и др.] // Врачеб. дело. - 1990. - № 10. - С. 27-30.

35. Применение метода изотермической деполяризации для анализа дисперсных систем / И.И. Лиштван [и др.] // Вещь АН БССР. Сер. **xiM**. наук. - 1985. - № 3. - С. 27-31.
36. Ройг, А. Основы иммунологии / А. Ройт. - М.: Мир, 1991. - 326 с.
37. Руководство по гастроэнтерологии: в 3 т. / А.Л. Гребенев [и др.]; Т. 2: Болезни печени и билиарной системы / под ред. Ф.И. Комарова, А.Л. Гребенева, А.И. Хазанова. - [б.м.; б.и.], 1995. - 528 с.
38. Сейланов, Л.С. Сравнительная эффективность реаферона и метотрексата при ревматоидном артрите / Л.С. Сейланов, Р.М. Балабанова, Л.А. Денисов // Терапевт, арх. - 1990. - Т. 62, № 5. - С. 41-44.
39. Серов, В.В. Морфологические критерии оценки этиологии, степени активности и стадии процесса при вирусных хронических гепатитах В и С / В.В. Серов, Л.О. Севергина // Арх. патологии. - 1996. - № 4. - С. 61-64.
40. Сигидин, Я.А. Ревматоидный артрит / Я.А. Сигидин, Г.В. Лукина. - М.: АНКО, 2001. - 328 с.
41. Силивончик, Н.Н. Цирроз печени / Н.Н. Силивончик. - Минск: Технопринт, 2000. - 204 с.
42. Силивончик, Н.Н. Цирроз печени и сахарный диабет / Н.Н. Силивончик, Ю.Х. Мараховский // Белорус. мед. журн. - 2003. - № 2, - С. 81-85.
43. Система диагностики диффузных паренхиматозных поражений печени у различных групп населения с повышенным риском инфицирования вирусными гепатитами В, С, D, G: метод, рекомендации / сост. С.В. Жаворонок [и др.]. - Минск; Витебск, 1998. - 51 с.
44. Соринсон, С.Н. Вирусные гепатиты в клинической практике / С.Н. Соринсон. - СПб.: ТЕЗА, 1998. - 331 с.
45. Сорока, Н.Ф. Ревматоидный артрит / Н.Ф. Сорока, Г.П. Матвейков // Справочник терапевта / под ред. Г.П. Матвейкова. - Минск: Беларусь, 2000. - 846 с.
46. Струков, А.И. Морфология иммунного воспаления при ревматических заболеваниях / А.И. Струков, Т.Н. Кольева, О.В. Макарова // Арх. патологии. - 1983. - № 11. - С. 44-50.
47. Тюрин, Ю.Н. Анализ данных на компьютере / Ю.Н. Тюрин, А.А. Макаров. - М., 2003.
48. Фаи, К. Новые подходы к лечению ревматоидного артрита / К. Фаи // Междунар. мед. журн. - 2000. - № 1. - С. 16-21.
49. Хурса, Р.В. Амбулаторная диагностика и лечение заболеваний печени: учеб.-метод. пособие / Р.В. Хурса. - Минск: БГМУ, 2005. - 47 с.

50. Частота и особенности выявления маркеров вирусов гепатита С среди донорской популяции Беларуси / М.А. Черновецкий [и др.] // Актуальные проблемы профилактики вирусных инфекций с парентеральным механизмом передачи: сб. тр. - Минск, 1995. - С. 56-67.

51. Шаламов, И.В. Взаимосвязи биохимических параметров и параметров процесса деполяризации / И.В. Шаламов, С.Н. Водчиц, Г.С. Евтушенко // Молекулярно-клеточные основы функционирования биосистем: тез. докл. II съезда Белорус, общ-ва фотобиологов и биофизиков. - Минск, 1996. - С. 183.

52. Шахбазян, И.Е. Особенности ювенильного ревматоидного артрита, сочетанного с HBV-инфекцией / И.Е. Шахбазян, С.Н. Чебышева, Е.С. Жолобова // Детская ревматология. - 1996. - № 4. - С. 8-13.

53. Шерлок, Ш. Заболевания печени и желчных путей: пер. с англ. / Ш. Шерлок, Дж. Дули. - М.: Гэотар Медицина, 1999. - 864 с.

54. Экстрапеченочная манифестация хронического гепатита С / Т.М. Игнатова [и др.] // Терапевт, арх. - 1998. - Т. 70. - № 11. - С. 9-16.

55. Юпатов, Г.И. Обнаружение маркеров вирусных гепатитов у больных ревматоидным артритом с помощью иммуноферментного анализа / Г.И. Юпатов // Иммунодиагностика и иммунотерапия: тр. 1-й Междунар. конф. - Витебск, 1995. - С. 174-175.

56. Яременко, О.Б. Современная стратегия базисной терапии ревматоидного артрита / О.Б. Яременко // Укр. ревматол. журн. - 2002. - № 3. - С. 45-51.

57. Яхонтова, О.И. Некоторые вопросы коллагенообразования при хронических заболеваниях печени / О.И. Яхонтова, О.П. Дуданова // Терапевт, арх. - 1994. - Т. 66, № 2. - С. 13-17.

58. A case of acute-onset autoimmune hepatitis with rheumatoid arthritis / Y. Morita [et al.] // Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi. - 2000. - Vol. 97, № 9. - P. 1161-1164.

59. A case of arthropathy and hypothyroidism during recombinant alpha-interferon therapy / S. Maccari [et al.] // Clin. Rheumatol. - 1991. - Vol. 10, № 4. - P. 452-454.

60. A case of chronic hepatitis C accompanied by polyarthritis during interferon treatment / M. Funaoka [et al.] // Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi. - 1994. - Vol. 91, № 2. - P. 212-216.

61. A case of hemophagocytic syndrome manifesting adult Still's disease and acute hepatitis / C. Hisano [et al.] // Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi. - 1995. - Vol. 18, № 2. - P. 256-264.

62. A case of hepatitis C virus (HCV)-associated arthritis. Quantitative analysis of HCV RNA of the synovial fluid and the serum / Y. Ueno [et al.] // Br. J. Rheumatol. - 1995. - Vol. 34, № 7. - P. 691-692.
63. A case of microscopic polyarteritis nodosa associated with autoimmune hepatitis complicated with rheumatoid arthritis and chronic thyroiditis / C. Inada [et al.] // Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi. - 2000. - Vol. 97, № 7. - P. 925-929.
64. A case report of autoimmune hepatitis with Felty's syndrome / H. Inaba [et al.] // Nippon Shokakibyo Gakkai Zasshi. - 1995. - Vol. 92, № 11. - P. 1876-1881.
65. A novel histological lesion in glucocorticoid-responsive chronic hepatitis / D. Pratt [et al.] // Gastroenterology. - 1997. - Vol. 113, № 2. - P. 664-668.
66. A novel murine anti-human FAS mAb which mitigates lymphadenopathy without hepatotoxicity / K. Ichikawa [et al.] // Int. Immunol. - 2000. - Vol. 12, № 4. - P. 555-562.
67. A randomized comparative study of the short term clinical and biological effects of intravenous pulse methylprednisolone and infliximab in patients with active rheumatoid arthritis despite methotrexate treatment / P. Durez [et al.] // Ann. Rheum. Dis. - 2004. - Vol. 63, № 9. - P. 1069-1074.
68. A randomized trial of amantadine and interferon versus interferon alone as initial treatment for chronic hepatitis C / A. Mangia [et al.] // Hepatol. - 2001. - Vol. 33, № 4. - P. 989-993.
69. A role for chronic hepatitis C virus infection in a patient with cutaneous vasculitis, cryoglobulinemia, and chronic liver disease. Effective therapy with interferon-alpha / C. Schirren [et al.] // Dig. Dis. Sci. - 1995. - Vol. 40, № 6. - P. 1221-1225.
70. A spectrum of histopathologic findings in autoimmune liver disease / L. Terracciano [et al.] // Am. J. Clin. Pathol. - 2000. - Vol. 114, № 5. - P. 705-711.
71. A study of autoimmune markers in hepatitis C infection / N. Agarwal [et al.] // Indian J. Med. Res. - 2001. - № 5. - P. 113-170.
72. Acute hepatitis in a patient with adult onset Still disease / M. Gallo [et al.] // Clin. Ter. - 1997. - Vol. 148, № 4. - P. 183-187.
73. Adult Still's disease associated with hepatitis C virus infection / J. Castanet [et al.] // J. Am. Acad. Dermatol. - 1994. - Vol. 31, № 5. - P. 807-808.
74. Amarapurkar, D. Role of autoimmunity in nonviral chronic liver disease / D. Amarapurkar, A. Amarapurkar // J. Assoc. Physicians India. - 2000. - Vol. 48, № 11. - P. 1064-1069.

75. Andreas, C. Chisari Pathogenesis of Chronic Hepatitis C: Immunological Features of Hepatic Injury and Viral Persistence / C. Andreas, V. Francis // *Hepatology*. - 1999. - Vol. 30, № 3. - P. 595-601.

76. Anti-actin antibodies in sera from patients with autoimmune liver diseases and patients with carcinomas by ELISA / L. Leibovitch [et al.] // *Immunol. Lett.* - 1995. - Vol. 48, № 2. - P. 129-132.

77. Antimitochondrial antibodies in patients with chronic hepatitis C virus infection: description of 18 cases and review of the literature / M. Ramos-Casals [et al.] // *J. Viral. Hepat.* - 2005. - Vol. 12, № 6. - P. 648-665.

78. Anti-ribosomal P antibodies in SLE: A case-control study correlating hepatic and renal disease / M. Hulsey [et al.] // *Clin. Immunol. Immunopathol.* - 1995. - Vol. 74, № 3. - P. 252-256.

79. Anti-ribosomal P protein antibodies detected by immunoblotting in patients with connective tissue diseases: their specificity for SLE and association with IgG anticardiolipin antibodies / A. Ghirardello [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* - 2000. - Vol. 59, № 12. - P. 975-981.

80. Arthritis after hepatitis B vaccination. Report of three cases / K. Gross [et al.] // *Scand. J. Rheumatol.* - 1995. - Vol. 24, № 1. - p. 50-52.

81. Arthritis in a patient with psoriasis after interferon alpha therapy for chronic hepatitis C / Y. Makino [et al.] // *J. Rheumatol.* - 1994. - Vol. 21, № 9. - P. 1771-1772.

82. Association between calciphylaxis and inflammation in two patients on chronic dialysis / S. Slough [et al.] // *Adv. Perit. Dial.* - 2006. - № 22. - P. 171-174.

83. Association between SEN virus infection and hepatitis C in Japan / T. Umemura [et al.] // *J. Infect. Dis.* - 2001. - Vol. 184, № 10. - P. 1246-1251.

84. Autoimmune disease complicating antiviral therapy for hepatitis C virus infection / L. Wilson [et al.] // *Semin. Arthritis Rheum.* - 2002. - Vol. 32, № 3. - P. 163-173.

85. Autoimmune endocrine disease induced by recombinant interferon-alpha therapy for chronic active type C hepatitis / A. Imagawa [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* - 1995. - Vol. 80, № 3. - P. 922-926.

86. Autoimmune hepatitis accompanied by systemic lupus erythematosus / J. Tojo [et al.] // *Intern. Med.* - 2004. - Vol. 43, № 3. - P. 258-262.

87. Autoimmune hepatitis and overlap syndromes / A. Vogel [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* - 2002. - Vol. 17, suppl. 3. - P. 389-398.

88. Avellis syndrome in systemic rheumatoid vasculitis / K. Kashiwara [et al.] // *Rinsho. Shinkeigaku.* - 1995. - Vol. 35, № 10. - P. 1155-1159.

89. Barbosa, V.S. Hepatitis C virus seroprevalence and genotypes in patients with diffuse connective tissue diseases and spondyloarthropathies / V.S. Barbosa, N.A. Silva, R.M. Martins // *Braz. J. Med. Biol. Res.* - 2005. - Vol. 38, № 5. - P. 801-805.
90. Barkhuizen, A. Hepatitis C infection presenting with rheumatic manifestations/A. Barkhuizen, R.M. Bennett// *Rheumatol.*- 1997. - Vol. 24, № 6. - P. 1238-1239.
91. Bartal, C. Autoimmune phenomena and musculoskeletal manifestations in hepatitis C viral infection / C. Bartal, E. Sikuler, D. Buskila // *Harefuah.* - 1997. - Vol. 132, № 9. - P. 639-642.
92. Boyer, N. Pathogenesis, diagnosis and management of hepatitis C / N. Boyer, P. Marcellin // *J. Hepatol.* - 2000. - Vol. 32, № 2, suppl. - P. 98-112.
93. Bresnihan, B. Pathogenesis of joint damage in rheumatoid arthritis / B. Bresnihan // *J. Rheumatol.* - 1999. - Vol. 26, № 3. - P. 717-719.
94. Brune, K. Drug therapy today / K. Brune // *Inflammation and rheumatic diseases* / ed. by S. Laufer, S. Gay, K. Brune. - Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2003. - P. 69-92.
95. Buckley, C.D. Science, medicine, and the future. Treatment of rheumatoid arthritis / C.D. Buckley // *BMJ.* - 1997. - Vol. 315, № 7102. - P. 236-238.
96. Buskila, D. Hepatitis C-associated arthritis / D. Buskila // *Curr. Opin. Rheumatol.* - 2000. - Vol. 12, № 4. - P. 295-299.
97. C virus: a common triggering factor for both nodular vasculitis and Sjogren's syndrome? / Cardinali C. [et al.] // *Br. J. Dermatol.* - 2000. - Vol. 142, № 1. - P. 187-189.
98. Chan, G. Monoarthritis in a chronic hepatitis B patient after alpha-interferon treatment / G. Chan, S. Lee, E. Yeoh // *J. Gastroenterol. Hepatol.* - 1992. - Vol. 7, № 4. - P. 432-433.
99. Chazerain, P. 3 cases of polyarthritis treated with recombinant alpha interferon / P. Chazerain, O. Meyer, P. Ribard // *Rev. Rhum. Mai. Osteoartic.* - 1992. - Vol. 59, № 5. - P. 303-309.
100. Chi, Z. Rheumatologic manifestations of hepatic diseases / Z. Chi, S. Ma // *Hepatobiliary Pancreat Dis. Int.* - 2003. - Vol. 2, № 1. - P. 32-37.
101. Chiari malformation type I associated with familial spastic paraplegia: report of a surgically treated case / A. Fujimoto [et al.] // *Childs. Nerv. Syst.* - 2005. - Vol. 21, № 4. - P. 336-338.
102. Chronic hepatitis C and autoimmunity: good response to immunosuppressive treatment / A. Tran [et al.] // *Dig. Dis. Sci.* - 1997. - Vol. 42, № 4. - P. 778-780.

103. Chronic hepatitis during rheumatoid arthritis / C. Job-Deslandre [et al.] // *Clin. Exp. Rheumatol.* - 1991. - Vol. 9, № 5. - P. 507-510.
104. Chronic lymphatic leukemia and large granular lymphocytes / M. Airoidi [et al.] // *Recenti Prog. Med.* - 1998. - Vol. 89, № 2. - P. 74-78.
105. Clearance kinetics of hepatitis C virus under different antiviral therapies / F. Torre [et al.] // *J. Med. Virol.* - 2001. - Vol. 64, № 4. - P. 455-459.
106. Clinical pharmacology of lumiracoxib: a selective cyclo-oxygenase-2 inhibitor / C.M. Rordorf [et al.] // *Clin. Pharmacokinet.* - 2005. - Vol. 44, № 12. - P. 1247-1266.
107. Clinical, laboratory, radiographic, and histopathologic features of methotrexate-associated lung injury in patients with rheumatoid arthritis: a multicenter study with literature review / J. Kremer [et al.] // *Arthritis Rheum.* - 1997. - Vol. 40, № 10. - P. 1829-1837.
108. Combination DMARD therapy with methotrexate, sulfasalazine, hydroxychloroquine in rheumatoid arthritis: continued efficacy with minimal toxicity at 5 years / J. O'Dell [et al.] // *Arthritis Rheum.* - 1998. - Vol. 41. - P. 132.
109. Combination of interferon and ribavirin in chronic hepatitis C: re-treatment of nonresponders to interferon / A.M. Di Bisceglie [et al.] // *Hepatology.* - 2001. - Vol. 33, № 3. - P. 704-707.
110. Comparative effects of different doses of ribavirin plus interferon-alpha2b for therapy of chronic hepatitis C: results of controlled, randomized trial / H. Bonkovsky [et al.] // *Dig. Dis. Sci.* - 2001. - Vol. 46, № 10. - P. 2051-2059.
111. Comparative sequence analysis of the core- and NS5-region of hepatitis C virus from tumor and adjacent non-tumor tissue / B. Ruster [et al.] // *J. Med. Virol.* - 2001. - Vol. 63, № 2. - P. 128-134.
112. Correlation between serum globulin levels and hepatitis C virus antibody / J. Poniachik [et al.] // *Rev. Med. Chil.* - 1993. - Vol. 121, № 7. - P. 752-756.
113. Cossu, A. Chronic polyarthritis in a patient affected by sarcoidosis and chronic HCV infection. Case report and review of the literature / A. Cossu, P.A. Cossu, A. Carcassi // *Reumatismo.* - 2002. - Vol. 54, № 2. - P. 144-149.
114. Cuchacovich, R. Applications of polymerase chain reaction in rheumatology / R. Cuchacovich, S. Quinet, A. Santos // *Rheum. Dis. Clin. North. Am.* - 2003. - Vol. 29, № 1. - P. 1-20.
115. Czaja, A. Histological findings in chronic hepatitis C with autoimmune features / A. Czaja, H. Carpenter // *Hepatology.* - 1997. - Vol. 26, № 2. - P. 459-466.

116. Davis, P. Viral infections, acquired immunodeficiency syndrome, and rheumatic diseases / P. Davis // *Curr. Opin. Rheumatol.* - 1992. - Vol. 4, № 4. - P. 529-533.

117. DC-SIGN: binding receptor for HCV? / Z.H. Feng [et al.] // *World J. Gastroenterol.* - 2004. - Vol. 10, № 7. - p. 925-929.

118. Desai, S.B. Problems encountered during anti-tumour necrosis factor therapy / S.B. Desai, D.E. Furst // *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* - 2006, - Vol. 20, № 4. - P. 757-790.

119. Detection of hepatitis C virus antibody in patients with autoimmune hepatitis and other chronic liver diseases / M. Onji [et al.] // *Gastroenterol. Jpn.* - 1991. - Vol. 26, № 2. - P. 182-186.

120. Development of arthritis and hypothyroidism during alpha-interferon therapy for chronic hepatitis C / E. Pittau [et al.] // *Clin. Exp. Rheumatol.* - 1997. - Vol. 15, № 4. - P. 415-419.

121. Development of rheumatoid arthritis after hepatitis C virus infection / T. Sawada [et al.] // *Arthritis Rheum.* - 1991. - Vol. 34, № 12. - P. 1620-1621.

122. Diagnostic value of synovial fluid microscopy: a reassessment and rationalization / A. Freemont [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* - 1991. - Vol. 50, № 2. - P. 101- 108.

123. Differential efficacy of corticosteroids and interferon in a patient with chronic hepatitis C-autoimmune hepatitis overlap syndrome / C. Petersen-Benz [et al.] // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* - 2004. - Vol. 2, № 5. - P. 440-443.

124. Dinarello, C. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis. A primer for clinicians. - 3rd ed. / C. Dinarello, L. Moldawer. - Amgen Inc, 2002. - 351 p.

125. Disappearance of serum HCV-RNA after short-term prednisolone therapy in a patient with chronic hepatitis C associated with autoimmune hepatitis-like serological manifestations / M. Yoshikawa [et al.] // *J. Gastroenterol.* - 1999. - Vol. 34, № 2. - P. 269-274.

126. Distribution of acid sphingomyelinase in human various body fluids / I. Takahashi [et al.] // *Tohoku J. Exp. Med.* - 2000. - Vol. 192, № 1. - P. 61-66.

127. Domitrovich, A.M. Hepatitis C virus nonstructural proteins inhibit apolipoprotein B100 secretion / A.M. Domitrovich, D.J. Felmlee, A. Siddiqui // *J. Biol. Chem.* - 2005. - Vol. 280, № 48. - P. 39 802-39 808.

128. Drucker, Y. Hepatitis C virus infection in patients with Sjogren's syndrome and non-Hodgkin's lymphoma: comment on the article by Voulgarelis et al. / Y. Drucker // *Arthritis. Rheum.* - 2000. - Vol. 43, № 5. - P. 1187.

129. Dynamic changes in HCV genotypes and sequence patterns in plasma donors exposed to reinfection / S. Zhang [et al.] // *J. Med. Virol.* - 2001. - Vol. 63, № 3. - P. 228-236.

130. Early referral recommendation for newly diagnosed rheumatoid arthritis: evidence based development of a clinical guide / P. Emery [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* - 2002. - Vol. 61, № 4. - P. 290-297.

131. Ebeling, F. Factors predicting interferon treatment response in patients with chronic hepatitis C: late viral clearance does not preclude a sustained response / F. Ebeling, M. Lappalainen, M. Vuoristo // *Am. J. Gastroenterol.* - 2001. - Vol. 96, № 4. - P. 1237-1242.

132. Effect of interferon therapy in a patient with chronic active hepatitis type C associated with interstitial pneumonia and rheumatoid arthritis: a case report / T. Kurihara [et al.] // *Clin. Ther.* - 1994. - Vol. 16, № 6. - P. 1028-1035.

133. Effect of tumour necrosis factor alpha antagonists on serum transaminases and viraemia in patients with rheumatoid arthritis and chronic hepatitis C infection / J. Peterson [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* - 2003. - Vol. 62, № 11. - p. 1078-1082.

134. Effect of ursodeoxycholic acid on autoimmune-associated chronic hepatitis C / K. Nakamura [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* - 1999. - Vol. 14, № 5. - P. 413—418.

135. Effects of cirrhosis, interferon and azathioprine on adverse events in patients with chronic hepatitis C treated with ribavirin / T. Thevenot [et al.] // *J. Viral. Hepat.* - 1997. - Vol. 4, № 4. - P. 243-253.

136. Efficacy and safety of pegylated (40-kd) interferon alpha-2a compared with interferon alpha-2a in noncirrhotic patients with chronic hepatitis C / K. Reddy [et al.] // *Hepatology.* - 2001. - Vol. 33, № 2. - P. 433-438.

137. Elmgreen, J. Inhibition of human neutrophils by auranofin: chemotaxis and metabolism of arachidonate via the 5-lipoxygenase pathway / J. Elmgreen, I. Anfelt-Ronne, O.N. Nielsen // *Ann. Rheum. Dis.* - 1989. - Vol. 48, № 2. - P. 134-138.

138. Epstein-Barr virus induced autoimmune responses. Presence in autoimmune disease / J. Vaughan [et al.] // *J. Clin. Invest.* - 1995. - Vol. 95, № 3. - P. 1316-1327.

139. Espinosa-Morales, R. Diagnostic confusion caused by hepatitis C: hemochromatosis presenting as rheumatoid arthritis / R. Espinosa-Morales, A. Escalante // *J. Rheumatol.* - 1998. - Vol. 25, № 12. - P. 2459-2463.

140. Etiology of chronic liver disease in children / M. Hanif [et al.] // *J. Pak. Med. Assoc.* - 2004. - Vol. 54, № 3. - P. 119-122.

141. Evaluation of hepatitis C antibody testing in saliva specimens collected by two different systems in comparison with HCV antibody and HCV RNA in serum / G. Van Dornum [et al.] // *J. Med. Virol.* - 2001. - Vol. 64, № 1. - P. 13-20.

142. Extrahepatic manifestations of hepatitis C virus / A. Tohme [et al.] // *J. Med. Liban.* - 1998. - Vol. 46, № 2. - P. 84-88.

143. Extrahepatic manifestations of hepatitis C virus / J. Yuste [et al.] // *An. Med. Interna.* - 1995. - Vol. 12, № 12. - P. 609-616.

144. False-positive anti-HCV tests in rheumatoid arthritis / L. Theilmann [et al.] // *Lancet.* - 1990. - Vol. 335, № 8701. - P. 1346.

145. Firestein, G. Etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis / G. Firestein // *Kelly's Textbook of Rheumatology* / ed. by S. Ruddy, E. Harris, C. Sledge. - 6th edition. - Philadelphia: W.B. Saunders, 2001. - P. 921-966.

146. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis / R.G. Knodell [et al.] // *Hepatology.* - 1981. - Vol. 38, № 4. - P. 431-435.

147. Gastric mucosa as an additional extrahepatic localization of hepatitis C virus: viral detection in gastric low-grade lymphoma associated with autoimmune disease and in chronic gastritis / S. De Vita [et al.] // *Hepatology.* - 2000. - Vol. 31, № 1. - P. 182-189.

148. Genovese, M.C. Current approaches to RA: Evaluating the expanding body of evidence / Genovese M.C. // *The Journal of Musculoskeletal Medicine.* - 2003. - № 3, suppl. - P. S5-S12.

149. Goldstein, N. Histologic spectrum of cryptogenic chronic liver disease and comparison with chronic autoimmune and chronic type C hepatitis / N. Goldstein, V. Kodali, S. Gordon // *Am. J. Clin. Pathol.* - 1996. - Vol. 105, № 1. - P. 134.

150. Goobar-Larsson, L. Intracellular hepatitis C virus RNA-dependent RNA-polymerase activity / L. Goobar-Larsson, L. Wicklund, S. Schwartz // *Arch. Virol.* - 2001. - Vol. 146, № 8. - P. 1553-1570.

151. Gordon, S. Extrahepatic manifestations of hepatitis C / S. Gordon // *Dig. Dis.* - 1996. - Vol. 14, № 3. - P. 157-168.

152. Gross, W. New concepts in treatment protocols for severe systemic vasculitis / W. Gross // *Curr. Opin. Rheumatol.* - 1999. - Vol. 11, № 1. - P. 41-46.

153. Gumber, S. Hepatitis C: a multifaceted disease. Review of extrahepatic manifestations / S. Gumber, S. Chopra // *Ann. Intern. Med.* - 1995. - Vol. 123, № 8. - P. 615-620.

154. Hadziyannis, S. Complex management issues: management of HCV in the atypical patient / S. Hadziyannis, D. Vassilopoulos // *Baillieres Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* - 2000. - Vol. 14, № 2. - P. 277-291.

155. Hajerr, A.H. Laboratory diagnosis of Hepatitis C virus infection. A change to common practice / A. H. Hajerr, Z.A. Metish, B.A. Al-Knawy // *Saudi Medical J.* - 2004. - Vol. 25, № 7. - P. 827-829.

156. Handzha, I. Viral infection and rheumatic diseases / I. Handzha, H. Lysenko, L. Produsevych // *Lik. Sprava.* - 1997. - № 1. - P. 37-39.

157. Has hepatitis C virus a specific tropism for the synovial membrane? / M. Cimmino [et al.] // *Br. J. Rheumatol.* - 1997. - Vol. 36, № 4. - P. 505-506.

158. HCV and cancer: a case-control study in high-endemic area / M. Montella [et al.] // *Liver.* - 2001. - Vol. 21, № 5. - P. 335-341.

159. HCV hepatitis and polyarthritis: a therapeutic approach / A. Zullo [et al.] // *J. Clin. Gastroenterol.* - 2000. - Vol. 30, № 2. - P. 216-217.

160. HCV infection and chronic arthritis: Does viral replication matter? / G. Tarantino [et al.] // *Hepatal. Res.* - 2006. - Vol. 35, № 4. - P. 238-241.

161. Hepatitis C and systemic diseases / A. Gattoni [et al.] // *Clin. Ter.* - 1997. - Vol. 148, № 4. - P. 133-151.

162. Hepatitis C virus (HCV)-induced IgG-IgM rheumatoid factor (RF) complex may be the main causal factor for cold-dependent activation of complement in patients with rheumatic disease / G. Wei [et al.] // *Clin. Exp. Immunol.* - 1997 - Vol. 107, № 1. - P. 83-88.

163. Hepatitis C virus and rheumatic disease / M. Wener [et al.] // *J. Rheumatol.* - 1996. - Vol. 23, № 6. - P. 953-959.

164. Hepatitis C virus RNA replication is resistant to tumour necrosis factor- α / M. Frese [et al.] // *J. Gen. Virol.* - 2003. - Vol. 84, № 5. - P. 1253-1259.

165. Hepatitis C virus-related arthritis: characteristics and response to therapy with interferon alpha / E. Zuckerman [et al.] // *Clin. Exp. Rheumatol.* - 2000. - Vol. 18, № 5. - P. 579-584.

166. Hepatitis C, cryoglobulinemia, and cutaneous vasculitis associated with unusual and serious manifestations / P. Mendez [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* - 2001. - Vol. 96, № 8. - P. 2489-2493.

167. Hepatitis in a patient with SLE: is it autoimmune hepatitis? / A. Kooy [et al.] // *Neth. J. Med.* - 1996. - Vol. 48, № 4. - P. 128-132.

168. Hepatitis with bridging fibrosis and reversible hepatic insufficiency in a woman with rheumatoid arthritis taking methotrexate / G. Kujala [et al.] // *Arthritis. Rheum.* - 1990. - Vol. 33, № 7. - P. 1037-1041.

169. Hepatocellular carcinoma in primary biliary cirrhosis: similar incidence to that in hepatitis C virus-related cirrhosis / L. Caballeria [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* - 2001. - Vol. 96, № 4. - P. 1160-1163.

170. Herbert, L. Hepatitis C: A review and update / L. Herbert, M. Bonkovsky, M.S. Mehta // *J. Am. Acad. Dermatology.* - 2001. - Vol. 44, № 2. - P. 159-182.

171. High prevalence of serological markers of autoimmunity in patients with chronic hepatitis C / B. Clifford [et al.] // *Hepatology.* - 1995. - Vol. 21, № 3. - P. 613-619.

172. Hirohata, S. Development of rheumatoid arthritis after chronic hepatitis caused by hepatitis C virus infection / S. Hirohata, T. Inoue, K. Ito // *J. Intern. Med.* - 1992. - Vol. 31, № 4. - P. 493-495.

173. Host sphingolipid biosynthesis as a target for hepatitis C virus therapy / H. Sakamoto [et al.] // *Nat. Chem. Biol.* - 2005. - Vol. 1, № 6. - P. 333-337.

174. Human immunodeficiency virus seroconversion and evolution of the hepatitis C virus quasispecies / Q. Mao [et al.] // *Hi. Virol.* - 2001. - Vol. 75, № 7. - P. 3259-3267.

175. Hypertransaminemia and methotrexate: not always a toxic effect? / C. Montilla Morales [et al.] // *Rev. Clin. Esp.* - 1998. - Vol. 198, № 12. - P. 822-824.

176. IgA rheumatoid factor in patients with chronic HCV-infection: prevalence and clinical correlations / E. Toubi [et al.] // *Clin. Exp. Rheumatol.* - 2003. - Vol. 21, № 4. - P. 524.

177. IgM rheumatoid factor occurrence with recurrence of polyarthritis and psoriasis after treatment with interferon alpha / A. Spadaro [et al.] // *Rev. Rhum.* - 1993. - Vol. 60, № 5. - P. 376-377.

178. Infection with an unenveloped DNA virus (TTV) associated with non-A to G hepatitis in patients with rheumatoid arthritis / D. Hirata [et al.] // *Br. J. Rheumatol.* - 1998. - Vol. 37, № 12. - P. 1361-1362.

179. Infliximab therapy for rheumatic diseases in patients with chronic hepatitis B or C / O. Oniankitan [et al.] // *J. Rheumatol.* - 2004. - Vol. 31, № 1. - P. 107-109.

180. Injectable gold-induced hepatitis and neutropenia in rheumatoid arthritis / W. Uhm [et al.] // *Korean J. Intern. Med.* - 2000. - Vol. 15, № 2. - P. 156-159.

181. Interferon and Ribavirin vs Interferon Alone in the Re-treatment of Chronic Hepatitis C Previously Nonresponsive to Interferon: A Meta-analysis of Randomized Trials / K. Cummings [et al.] // *JAMA.* - 2001. - Vol. 285, № 2. - P. 193-199.

182. Ioannou, Y. Current evidence for the induction of autoimmune rheumatic manifestations by cytokine therapy / Y. Ioannou, D. Isenberg // *Arthritis Rheum.* - 2000. - Vol. 43, № 7. - P. 1431-1442.
183. Janadi, M. Soluble CD23 and interleukin. levels in autoimmune chronic active hepatitis and systemic lupus erythematosus / M. Janadi, A. Wabel, S. Raziuddin // *Clin. Immunol. Immunopathol.* - 1994. - Vol. 71, № 1. - P. 33-37.
184. Jendro, M. Hepatitis C virus in rheumatic diseases / M. Jendro, J. Hulsemann, H. Zeidler // *J. Rheumatol.* - 1997. - Vol. 56, № 5. - P. 276-286.
185. Li, D. Autoimmune hepatitis / D. Li, K. Schwarz // *Adolesc. Med. Clin.* - 2004. - Vol. 15, № 1. - P. 131-143.
186. Lock, A. Hepatitis B infection: patogenesis and management / A. Lock // *J. Hepatol.* - 2000. - Vol. 32, suppl. 2. - P. 89-97.
187. Long term efficacy of interferon-alpha for extrahepatic disease associated with hepatitis C virus infection / M. Naarendorp [et al.] // *J. Rheumatol.* - 2001. - Vol. 28, № 11. - P. 2466-2473.
188. Lovy, M. Rheumatic disorders associated with hepatitis C / M. Lovy, G. Starkebaum // *Baillieres. Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* - 2000. - Vol. 14, № 3. - P. 535-557.
189. Lucas, P.J. Second evaluation of HEPAR, an expert system for the diagnosis of disorders of the liver and biliary tract / P.J. Lucas, A.R. Janssens // *Liver.* - 1991. - Vol. 11, № 6. - P. 340-346.
190. Lunel, F. Treatment of autoimmune and extrahepatic manifestations of hepatitis C virus infection / F. Lunel, P. Cacoub // *J. Hepatol.* - 1999. - Vol. 31, suppl. 1. - P. 210-216.
191. Lymphotropism of hepatitis B and C viruses: an update and a newcomer / E. Kajiwara [et al.] // *Int. J. Clin. Lab. Res.* - 1995. - Vol. 25, № 1. - P. 1-6.
192. Maekawa, S. A case of rheumatoid arthritis associated with progressive systemic sclerosis and primary biliary cirrhosis in the presence of various autoantibodies / S. Maekawa, E. Yano, S. Shintani // *Ryumachi.* - 1992. - Vol. 32, № 5. - P. 515-521.
193. Manns, M. Autoimmunity and extrahepatic manifestations in hepatitis C virus infection / M. Manns, E. Rambusch // *J. Hepatol.* - 1999. - Vol. 31, suppl. 1. - P. 39-42.
194. Manns, M. Hepatotropic viruses and autoimmunity / M. Manns // *J. Viral. Hepat.* - 1997. - Vol. 4, suppl. 1. - P. 7-10.
195. Manns, M. Viral induction of autoimmunity: mechanisms and examples in hepatology / M. Manns, P. Obermayer-Straub // *J. Viral. Hepat.* - 1997. - Vol. 4, suppl. 2. - P. 42-47.

196. Mariette, X. Lymphomas complicating Sjogren's syndrome and hepatitis C virus infection may share a common pathogenesis: chronic stimulation of rheumatoid factor B cells / X. Mariette // *Ann. Rheum. Dis.* - 2001. - Vol. 60, № 11. - P. 1007-1010.
197. Mariette, X. The hepatitis C virus and systemic diseases / X. Mariette // *Rev. Rhum. Engl. Ed.* - 1998. - Vol. 65, № 12. - P. 737-740.
198. Martinez Alvarez, R. Rheumatic manifestations associated with infection by the hepatitis C virus / R. Martinez Alvarez, J. Manero Ruiz // *An. Med. Interna.* - 1997. - Vol. 14, № 10. - P. 516-518.
199. Mayo, M. Extrahepatic manifestations of hepatitis C infection / M. Mayo // *Am. J. Med. Sci.* - 2003. - Vol. 325, № 3. - P. 135-148.
200. McHutchison, J. Current therapy for hepatitis C: pegylated interferon and ribavirin / J. McHutchison, M. Fried // *Clin. Liver Dis.* - 2003. - Vol. 7, № 1. - P. 149-161.
201. McMurray, R. Hepatitis C virus infection and autoimmunity / R. McMurray, K. Elbourne // *Semin. Arthritis Rheum.* - 1997. - Vol. 26, № 4. - P. 689-701.
202. Mehta, S. Extrahepatic manifestations of infection with hepatitis C virus / S. Mehta, J. Levey, H. Bonkovsky // *Clin. Liver Dis.* - 2001. - Vol. 5, № 4. - P. 979-1008.
203. Methotrexate for rheumatoid arthritis. Suggested guidelines for monitoring liver toxicity. American College of Rheumatology / J. Kremer [et al.] // *Arthritis. Rheum.* - 1994. - Vol. 37, № 3. - P. 316-328.
204. Mohr, W. Polymorphonuclear granulocytes in rheumatic tissue destruction VIII. Considerations on the inflammatory cartilage destruction in chronic arthritides in comparison with liver injuries by PMN's / W. Mohr // *Z. Rheumatol.* - 2003. - Vol. 62, № 6. - P. 539-546.
205. Molecular evidence of male-to-female sexual transmission of hepatitis c virus after vaginal and anal intercourse / P. Halfon [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* - 2000. - Vol. 39, № 3. - P. 1204-1206.
206. Mono-arthritis following intensified interferon beta therapy for chronic hepatitis C / K. Murata [et al.] // *Hepatogastroenterology.* - 2002. - Vol. 49, № 47. - P. 1418-1419.
207. Moreland, L.W. Management of rheumatoid arthritis: historical context / L.W. Moreland, A.S. Russell, H.E. Paulus // *J. Rheumatol.* - 2001. - Vol. 28, № 6. - P. 1431-1452.
208. Morphologic capillary changes and manifestations of connective tissue diseases in patients with primary biliary cirrhosis / V. Fonollosa [et al.] // *Lupus.* - 2001. - Vol. 10, № 9. - P. 628-631.

209. Muhlen, C. Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases / C. Muhlen, E. Tan // *Semin. Arthritis. Rheum.* - 1995. - Vol. 24, № 5. - P. 323-358.

210. Musculoskeletal pain and fatigue are associated with chronic hepatitis C: a report of 239 hepatology clinic patients / A. Barkhuizen [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* - 1999. - Vol. 94, № 5. - P. 1355-1360.

211. Nagao, Y. Extrahepatic manifestation associated with HCV infection / Y. Nagao, M. Sata // *Nippon Shokakibyō Gakkai Zasshi.* - 1999. - Vol. 96, № 11. - P. 1249-1257.

212. Naides, S. Viral arthritis including HIV / S. Naides // *Curr. Opin. Rheumatol.* - 1995. - Vol. 7, № 4. - P. 337-342.

213. Natural history of HCV infection / T. Poynard [et al.] // *Baillieres Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* - 2000. - Vol. 14, № 2. - P. 211-228.

214. Neutrophil CD177 (NB1 gp, HNA-2a) expression is increased in severe bacterial infections and polycythaemia vera / K. Gohring [et al.] // *Br. J. Haematol.* - 2004. - Vol. 126, № 2. - P. 252-254.

215. Nocente, R. HCV infection and extrahepatic manifestations / R. Nocente, M. Ceccanti, G. Bertazzoni // *Hepatogastroenterology.* - 2003. - Vol. 50, № 52. - P. 1149-1154.

216. Okanoue, T. Autoimmune disorders in interferon therapy / T. Okanoue, Y. Itoh, K. Yasui // *Nippon Rinsho.* - 1994. - Vol. 52, № 7. - P. 1924-1928.

217. Olsen, N.J. New drugs for rheumatoid arthritis / N.J. Olsen, C.M. Stein // *N. Engl. J. Med.* - 2004. - Vol. 350, № 21. - P. 2167-2179.

218. Peng, S. Gastrointestinal adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs / S. Peng, A. Duggan // *Expert. Opin. Drug. Saf.* - 2005. - Vol. 4, № 2. - P. 157-169.

219. Perturbation of the T cell repertoire in rheumatoid arthritis / U. Wagner [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 1998. - Vol. 95, № 24. - P. 14 447-14 452.

220. Plasma exchange and interferon-alpha pharmacokinetics in patients with hepatitis C virus-associated systemic vasculitis / P. Hausfater [et al.] // *Nephron.* - 2002. - Vol. 91, № 4. - P. 627-630.

221. Prevalance of antibodies against hepatitis C and B viruses in patients with systemic lupus erythematosus / U. Mercado [et al.] // *Rev. Gastroenterol. Mex.* - 2005. - Vol. 70, № 4. - P. 399-401.

222. Prevalence and incidence of cryoglobulins in hepatitis C virus-related chronic hepatitis patients: a prospective study / M. Persico [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* - 2003. - Vol. 98, № 4. - P. 884-888.

223. Prevalence of hepatitis B, hepatitis C, GB virus C / hepatitis G and TT viruses in predialysis and hemodialysis patients / J. Lopez-Alcorocho [et al.] // *J. Med. Virol.* - 2001. - Vol. 63, № 2. - P. 103-107.

224. Prevalence of hepatitis C virus infection in patients with rheumatoid arthritis / J. Maillfert [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* - 2002. - Vol. 61, № 7. - P. 635-637.

225. Prevalence of rheumatoid arthritis and hepatitis C in those age 60 and older in a US population based study / F. Hsu [et al.] // *J. Rheumatol.* - 2003. - Vol. 30, № 3. - P. 455-458.

226. Prospective study of mother-to-infant transmission of hepatitis C virus / H. Tajiri [et al.] // *Pediatr. Infect. Dis. J.* - 2001. - Vol. 20, № 1. - P. 10-14.

227. Ramos-Remus, C. Rheumatic features of gastrointestinal tract, hepatic, and pancreatic diseases / C. Ramos-Remus, S. Bahlas, O. Vaca-Morales // *Curr. Opin. Rheumatol.* - 1997. - Vol. 9, № 1. - P. 56-61.

228. Remission of severe rheumatoid arthritis following liver transplantation / A. Lohse [et al.] // *Br. J. Rheumatol.* - 1993. - Vol. 32, № 9. - P. 827-828.

229. Research news concerning epidemiology, diagnosis, and therapy of primary systemic vasculitides / P. Lamprecht [et al.] // *Med. Klin.* - 2006. - Vol. 15, № 3. - P. 212-225.

230. Results of steroid-based therapy for the hepatitis C-autoimmune hepatitis overlap syndrome / T. Schiano [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* - 2001. - Vol. 96, № 10. - P. 2984-2991.

231. Retroviruses in autoimmune liver disease: genetic or environmental agents? / A. Mason [et al.] // *Arch. Immunol. Ther. Exp.* - 1999. - Vol. 47, № 5. - P. 289-297.

232. Rheumatic disorders developed after hepatitis B vaccination / J. Maillfert [et al.] // *Rheumatology.* - 1999. - Vol. 38, № 10. - P. 978-983.

233. Rheumatic manifestations of chronic hepatitis C and response to the treatment with interferon alpha-2b / E. Bon [et al.] // *Rev. Rhum.* - 1994. - Vol. 61, № 7-8. - P. 497-504.

234. Rheumatoid arthritis and hepatitis C virus antibodies / L. Borque [et al.] // *J. Clin. Exp. Rheumatol.* - 1991. - Vol. 9, № 6. - P. 617-619.

235. Rheumatoid arthritis induced by alpha-interferon therapy / E. Passos de Souza [et al.] // *Clin. Rheumatol.* - 2001. - Vol. 20, № 4. - P. 297-299.

236. Rheumatologic and autoimmune manifestations in patients with chronic hepatitis C virus infection / M. Romero Portales [et al.] // *Rev. Esp. Enferm. Dig.* - 1997. - Vol. 89, № 8. - P. 591-598.

237. Rheumatological manifestations of hepatitis C: incidence in a rheumatology and non-rheumatology setting and the effect of methotrexate and interferon / M.J. Nissen [et al.] // *Rheumatology*. - 2005. - Vol. 44, № 8. - P. 1016-1020.

238. Rivera, J. Hepatitis C virus infection presenting as rheumatoid arthritis. Why not? / J. Rivera, A. Garcia-Monforte // *J. Rheumatol.* - 1999. - Vol. 26, № 9. - P. 2062-2063.

239. Robinson, D. Clinical therapeutics / D. Robinson // *Curr. Opin. Rheumatol.* - 1997. - Vol. 9, № 3. - P. 175-177.

240. Role of hepatitis B, C and D viruses in dual and triple infection: influence of viral genotypes and hepatitis B precore and basal core promoter mutations on viral replicative interference / R. Jardi [et al.] // *Hepatology*. - 2001. - Vol. 34, № 2. - P. 404-410.

241. Sada, M. Lesions of the skin, mucous membrane, muscles, and hematopoietic organs caused by hepatitis viruses / M. Sada, Y. Nagao // *Nippon Naika Gakkai Zasshi*. - 2000. - Vol. 89, № 9. - P. 1860-1866.

242. Safety of anti-TNF-alpha therapy in rheumatoid arthritis and spondylarthropathies with concurrent B or C chronic hepatitis / C.H. Roux [et al.] // *Rheumatology*. - 2006. - Vol. 45, № 10. - P. 1294-1297.

243. Schapira, D. Interferon-induced Raynaud's syndrome / D. Schapira, A. Nahir, N. Hadad // *Semin. Arthritis Rheum.* - 2002. - Vol. 32, № 3. - P. 157-162.

244. Selva, A. Hepatitis C virus infection, Sjogren's syndrome, and non-Hodgkin's lymphoma / A. Selva, D. Rodriguez-Pardo // *Arthritis Rheum.* - 1999. - Vol. 42, № 11. - P. 2489-2490.

245. Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of the literature / C. Colin [et al.] // *J. Viral. Hepat.* - 2001. - Vol. 8, № 2. - P. 87-95.

246. Serological markers of arthritis in patients with chronic viral hepatitis / A. Dudek [et al.] // *Pol. Merkur. Lekarski*. - 2006. - Vol. 20, № 118. - p. 404-407.

247. Serum autoantibodies in chronic hepatitis C: comparison with autoimmune hepatitis and impact on the disease profile / F. Cassani [et al.] // *Hepatology*. - 1997. - Vol. 26, № 3. - P. 561-566.

248. Severe hepatitis and pure red cell aplasia in adult Still's disease: good response to immunosuppressive therapy / H. Janssen [et al.] // *Dig. Dis. Sci.* - 1999. - Vol. 44, № 8. - P. 1639-1642.

249. Shearer, C. Symmetric polyarthritis with livedo reticularis: a newly recognized manifestation of hepatitis C virus infection / C. Shearer, J. Jackson, J. Calien // *J. Am. Acad. Dermatol.* - 1997. - Vol. 37, № 4. - P. 659-661.

250. Simon, L.S. New and future drug therapies for rheumatoid arthritis / L.S. Simon, D. Yocum // *Rheumatology*. - 2000. - Vol. 39, suppl. 1. - P. 36-42.

251. Sjogren syndrome and hepatitis C virus infection / M. Casals [et al.] // *Med. Clin.* - 1999. - Vol. 112, № 18. - P. 718-719.

252. Sjogren's syndrome complicated with autoimmune hepatitis and antiphospholipid antibody syndrome / Y. Katayama [et al.] // *Intern. Med.* - 2000. - Vol. 39, № 1. - P. 73-76.

253. Soluble liver antigen-isolation of a 35-kd recombinant protein (SLA-p35) specifically recognizing sera from patients with autoimmune hepatitis / M. Volkmann [et al.] // *Hepatology*. - 2001. - Vol. 33, № 3. - P. 591-596.

254. Steen, K.S. Questionnaire on NSAID gastropathy among Dutch rheumatologists / K.S. Steen, W.F. Lems, B.A. Dijkmans // *Clin. Rheumatol.* - 2000. - Vol. 19, № 3. - P. 193-194.

255. Still's disease, severe thrombocytopenia, and acute hepatitis associated with acute parvovirus B19 infection / G. Longo [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* - 1998. - Vol. 26, № 4. - P. 994-995.

256. Strassburg, C. Autoimmunity and hepatitis C / C. Strassburg, A. Vogel, M. Manns // *Autoimmun. Rev.* - 2003. - Vol. 2, № 6. - P. 322-331.

257. Subclasses of immunoglobulins and autoantibodies in autoimmune diseases / I. Outschoorn [et al.] // *Clin. Immunol. Immunopathol.* - 1993. - Vol. 66, № 1. - P. 59-66.

258. Successfully treated sulphasalazine-induced fulminant hepatic failure, thrombocytopenia and erythroid hypoplasia with intravenous immunoglobulin / J. Huang [et al.] // *Clin. Rheumatol.* - 1998. - Vol. 17, № 4. - P. 349-352.

259. Sulfatides: targets for anti-phospholipid antibodies / M. Merten [et al.] // *Circulation*. - 2003. - Vol. 28 (108), № 17. - P. 2082-2087.

260. Systemic lupus erythematosus and dermatomyositis: case report / G. Rostic [et al.] // *Srp. Arh. Celok. Lek.* - 2005. - Vol. 133, suppl. 2. - P. 137-140.

261. Systemic lupus erythematosus in a multiethnic US cohort, XXXVII: association of lymphopenia with clinical manifestations, serologic abnormalities, disease activity, and damage accrual / L.M. Vila [et al.] // *Arthritis. Rheum.* - 2006. - Vol. 15, № 5. - P. 799-806.

262. Systemic sclerosis developing in association with the use of interferon alpha therapy for chronic viral hepatitis / R. Solans [et al.] // *Clin. Exp. Rheumatol.* - 2004. - Vol. 22, № 5. - P. 625-628.

263. Tanei, R. Lichen planus and Sjogren-type sicca syndrome in a patient with chronic hepatitis C / R. Tanei, Y. Ohta, K. Katsuoka // *J. Dermatol.* - 1997. - Vol. 24, № 1. - P. 20-27.

264. The accuracy of SM-HCV rapid test for the detection of antibody to hepatitis C virus / M. Yuen [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* - 2001. - Vol. 96, № 3. - P. 838-841.

265. The case for hepatitis C arthritis /1. Rosner [et al.] // *Semin. Arthritis Rheum.* - 2004. - Vol. 33, № 6. - P. 375-387.

266. The cryoglobulins: an overview / F. Dammacco [et al.] // *Eur. J. Clin. Invest.* - 2001. - Vol. 31, № 7. - P. 628-638.

267. Therapeutic management of extrahepatic manifestations in patients with chronic hepatitis C virus infection / M. Ramos-Casals [et al.] // *Rheumatology.* - 2003. - Vol. 42, № 7. - P. 818-828.

268. Treatment of chronic hepatitis C infection with cryoglobulinemia / A. Delia Rossa [et al.] // *Curr. Opin. Rheumatol.* - 2002. - Vol. 14, № 3. - P. 231-237.

269. Tsutsumi, A. Hepatic manifestations of the antiphospholipid syndrome / A. Tsutsumi, T. Koike // *Intern. Med.* - 2000. - Vol. 39, № 1. - P. 6-7.

270. Undifferentiated connective tissue syndromes (UCTS) accompanied by laryngeal involvement and autoimmune hepatitis / M. Nishinarita [et al.] // *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi.* - 1995. - Vol. 18, № 5. - P. 559-565.

271. Uveitis in autoimmune hepatitis: a case report / R.G. Romanelli [et al.] // *World J. Gastroenterol.* - 2006. - Vol. 14, № 10. - P. 1637-1640.

272. Vassilopoulos, D. Rheumatic manifestations of hepatitis C infection / D. Vassilopoulos, L. Calabrese // *Curr. Rheumatol. Rep.* - 2003. - Vol. 5, № 3. - P. 200-204.

273. Vautier, G. Acute sero-positive rheumatoid arthritis occurring after hepatitis vaccination / G. Vautier, J. Carty // *Br. J. Rheumatol.* - 1994. - Vol. 33, № 10. - P. 991.

274. Vial, T. Clinical toxicity of the interferons / T. Vial, J. Descotes // *Drug. Saf.* - 1994. - Vol. 10, № 2. - P. 115-150.

275. Viral load in HCV RNA-positive pregnant women / D. Paternoster [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* - 2001. - Vol. 96, № 9. - P. 2751-2754.

276. Virus-like particles in a case of acute hepatitis with human GB virus-C viraemia / F. Risse [et al.] // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* - 2001. - Vol. 13, № 2. - P. 195-198.

277. Wattré, P. Current status of human cytomegalovirus disease / P. Wattré, A. Dewilde, P. Lobert // *Rev. Med. Interne.* - 1995. - Vol. 16, № 5. - P. 354-367.

278. Worman, H. Molecular biological methods in diagnosis and treatment of liver diseases / H. Worman // *Clin. Chem.* - 1997. - Vol. 43, № 8. - P. 1476-1486.

279. Youssef, W.I. Connective tissue diseases and the liver / W.I. Youssef, A.S. Tawill // *J. Clin. Gastroenterol.* - 2002. - Vol. 35, № 4. - P. 345-349.

280. Zharov, V.P. Nanocluster model of photothermal assay: application for high-sensitive monitoring of nicotine-induced changes in metabolism, apoptosis, and necrosis at a cellular level / V.P. Zharov, V. Galitovsky, P. Chowdhury // *J. Biomed. Opt.* - 2005. - Vol. 10, № 4. - P. 440-411.

281. Zignego, A. Extrahepatic manifestations of HCV infection: facts and controversies / A. Zignego, C. Brechot // *J. Hepatol.* - 1999. - Vol. 31, № 2. - P. 369-376.

282. Zuckerman, E. Management of hepatitis C virus-related arthritis / E. Zuckerman, D. Yeshurun, I. Rosner // *BioDrugs.* - 2001. - Vol. 15, № 9. - P. 573-584.

Научное издание

Губкин Сергей Владимирович
Яблонский Владимир Николаевич

НСV-ИИФЕКЦИЯ И ПАТОЛОГИЯ ПЕЧЕНИ
ПРИ РЕВМАТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Монография

Редактор
Юлия Козловская

Макетирование
Евгения Плиско

Художественное оформление
Виталий Котович

Обработка иллюстраций
Евгения Плиско

Технический редактор
Александр Дрыбин

Подписано в печать 27.11.07. Формат 60х90 Ч_д. Бумага офсетная. Гарнитура Times.

Усл. печ. л. 10,75. Уч.-изд. л. 10,2. Тираж 100 экз. Заказ № ИЗ.

Издатель и полиграфическое исполнение НПК «Тэхналопя».

ЛИ № 02330/0133466 от 09.02.05. 220007, Минск, ул. Левкова, 19.