

Анисимова Анна Александровна

**ОСОБЕННОСТИ ФЕНОТИПА НК-КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ
ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ С ПРИ ЛЕЧЕНИИ
ПРЕПАРАТАМИ ПРЯМОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО ДЕЙСТВИЯ**

3.1.22. Инфекционные болезни

3.3.3. Патологическая физиология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Тихонова Елена Петровна

доктор медицинских наук, профессор

Савченко Андрей Анатольевич

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, доцент

Малов Сергей Игоревич

(Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра инфекционных болезней, профессор кафедры)

доктор медицинских наук, профессор

Цыбиков Намжил Нанзатович

(Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра патологической физиологии, заведующий кафедрой)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится 26 декабря 2025 года в ____ : 00 часов на заседании диссертационного совета 21.2.046.01, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; тел.: +7(383)229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, ул. Залесского, д. 4; тел. +7(383)222-68-35); <https://new.ngmu.ru/dissers/get-file/4984>)

Автореферат разослан « ____ » _____ 2025 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

Ирина Валентиновна Куимова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Хронический вирусный гепатит С (ХВГС) продолжает оставаться одной из значимых проблем современного здравоохранения в связи с высокой распространенностью и смертностью (Ивашкин В. Т. и др., 2023; Sallam M., Khalil R., 2024). Персистенция HCV запускает последовательный процесс патологических изменений, от минимальных гистологических сдвигов, до прогрессирующего фиброза печени (ФП), вплоть до развития цирроза (ЦП) и даже гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК) (Козлов В. А. и др., 2024; Ali H. et al., 2024). В настоящее время Россия, как и многие страны мира, переживает переход от фазы высокой заболеваемости гепатитом С к фазе контроля над инфекцией, во многом благодаря появлению препаратов прямого противовирусного действия (ПППД), эффективность которых составляет более 95 % (Radley A. et al., 2019; Goel A. et al., 2023; Sallam M. et al., 2024). Несмотря на элиминацию HCV, не все последствия ХВГС полностью обратимы, не всегда удается полностью восстановить функции печени и других органов, подвергшихся длительному воздействию хронической инфекции (Marshall A. D. et al., 2024; Radu P. et al., 2024). Проведенные ранее исследования показали полное или частичное сохранение дисфункции иммунных клеток после достижения устойчивого вирусологического ответа (УВО) (Zhang Y. et al., 2022; Bi W. et al., 2023; Tsukanov V. V. et al., 2024). Эти изменения могут приводить к нарушению регуляторных механизмов, связанных с регенеративными процессами в печени (Hensel N. et al., 2021; Tonnerre P. et al., 2022; Du K. et al., 2024).

НК-клетки (естественные или натуральные киллеры) играют важную роль в противовирусном иммунитете, представляя собой первую линию врожденного иммунного ответа. Они составляют значительную долю лимфоцитов в печени (30–50 %) и осуществляют контроль над инфекцией HCV, посредством уничтожения инфицированных вирусом гепатоцитов (Козлов В. А. и др. 2021; Björkström N. K. et al., 2022). Кроме того, НК-клетки выполняют антифибротическую функцию, которая включает элиминацию активированных звездчатых клеток печени (Yan Y. et al., 2021; Quatrini L. et al., 2021; Tong L. et al., 2022). При хронической HCV инфекции наблюдается сложная и часто дисфункциональная реакция НК-клеток, которая способствует персистенции вируса и прогрессированию фиброза (Bi W. et al., 2023; Kleczka A. et al., 2023).

До настоящего времени не до конца изучено в какой степени персистенция HCV влияет на фенотипический состав НК-клеток. Выявление различных изменений в субпопуляционном составе НК-клеток позволит подробнее оценить их роль в реализации иммунного ответа у больных ХВГС, установить возможность восстановления вызванной вирусом иммунной дисфункции после многих лет хронической инфекции, изучить иммунные механизмы, влияющие на развитие ФП.

Степень разработанности темы исследования. Вопрос о роли НК-клеток в патогенезе ХВГС активно исследуется на современном этапе. Фундаментальные и клинические исследования сформировали понимание роли НК-клеток не только в противовирусной защите, но и в процессах хронизации инфекции, прогрессирования фиброза печени и нарушения иммунной регуляции (Zhang Y. et al., 2022; Kleczka A. et al., 2023). Охарактеризованы основные механизмы подавления функциональной активности

НК-клеток, опосредованные HCV, к которым относятся прямое воздействие вирусных белков на рецепторный аппарат НК-клеток и косвенная модуляция через индукцию иммуносупрессивных цитокинов в микроокружении печени (Di Vito C. et al., 2022; Jiang H. et al., 2022). Существуют разногласия относительно влияния хронической вирусной инфекции на цитолитическую функцию НК-клеток (Njiomegnie G. F. et al., 2020; Bjorgen J. C. et al., 2023). Установлена связь между вирус-индуцированной дисрегуляцией иммунной системы и развитием ФП (Perpiñán E. et al., 2020; Kleczka A. et al., 2023; Kyrysyuk O. et al., 2023). Элиминация вируса не приводит к нормализации различных субпопуляций лимфоцитов (Ghosh A. et al., 2020; Khayrulla F. et al., 2021), отмечена вариабельность ответа на лечение со стороны гетерогенных субпопуляций НК-клеток (Zhang X. et al., 2022; Савченко А. А. и др., 2024). Дифференцированный ответ различных подгрупп НК-клеток при ХВГС до настоящего времени изучен недостаточно, многие вопросы патогенеза, касающиеся прогрессирования ФП, после применения противовирусной терапии остаются нерешенными, не отработаны критерии прогноза изменения степени фиброза на фоне терапии ПППД.

Цель исследования. Установить особенности фенотипа НК-клеток у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С в зависимости от генотипа вируса и степени фиброза печени до и после лечения препаратами прямого противовирусного действия.

Задачи исследования

1. Провести сравнительный анализ динамики комплекса клиничко-лабораторных и инструментальных параметров в зависимости от исходных характеристик инфекционного процесса (генотип вируса, уровень вирусной нагрузки) и степени фиброза печени у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С на фоне терапии препаратами прямого противовирусного действия.
2. Изучить особенности фенотипа НК-клеток у больных хроническим вирусным гепатитом С с различными генотипами HCV до и после лечения препаратами прямого противовирусного действия.
3. Выявить ассоциацию фенотипа НК-клеток со степенью фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом С до и после лечения препаратами прямого противовирусного действия.
4. По наиболее информативным показателям фенотипа НК-клеток разработать метод прогноза изменения степени фиброза у больных хроническим вирусным гепатитом С после лечения препаратами прямого противовирусного действия в качестве предиктора отрицательной динамики и для оптимизации диспансерного наблюдения за пациентами.

Научная новизна. Установлена возможность обратного развития ФП после терапии ПППД в ранние сроки наблюдения.

На достаточном фактическом материале с применением современных методов проточной цитометрии выполнено изучение фенотипических характеристик НК-клеток у пациентов с ХВГС в зависимости от генотипа вируса и стадии ФП до и после проведения терапии ПППД.

Установлены значительные нарушения в количественном и субпопуляционном составе НК-клеток, проявляющиеся в снижении числа регуляторных CD56^{bright} и увеличении доли цитотоксических CD56^{dim} НК-клеток, что свидетельствует нарушении регуляторного и

цитокинового ответа при ХВГС.

Выявлена двойственная роль НК-клеток в патогенезе ХВГС. Обнаружено одновременное присутствие активированных эффекторных популяций НК-клеток, ассоциированных с противовирусным иммунным ответом, и супрессорных субпопуляций НК-клеток, способствующих персистенции вирусной инфекции и хронизации патологического процесса.

Доказано что, несмотря на достижение УВО, восстановление функциональной активности и фенотипического профиля НК-клеток наблюдается лишь у части пациентов, что указывает на сохраняющиеся нарушения иммунной регуляции после эрадикации вируса.

Выявлены особенности фенотипа НК-клеток при разных стадиях ФП и его динамики при лечении ПППД.

Впервые разработан интегральный показатель – иммунорегуляторный коэффициент цитотоксической активности (ИКЦА), основанный на соотношении активирующих и ингибирующих рецепторов НК-клеток. Определено пороговое значение ИКЦА (47,54), позволяющее прогнозировать динамику ФП после успешной терапии ПППД.

Теоретическая и практическая значимость работы. Установлены особенности субпопуляционного состава НК-клеток у больных ХВГС до и после проведения терапии ПППД. Эти сведения помогают лучше понять особенности иммунных нарушений, способствующих длительному сохранению HCV в организме.

Проанализированы возможные причины отсутствия изменения степени ФП после элиминации вируса. Предложен способ оценки динамики ФП после успешной терапии ПППД, который позволит выявить группы риска (вероятность прогрессирования ФП) среди пациентов с ХВГС, достигших УВО.

Получен патент РФ на изобретение № 2841837 от 17.06.2025 «Способ прогнозирования отсутствия снижения степени фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом С после лечения препаратами прямого противовирусного действия». Метод позволяет персонализировать подход к динамическому наблюдению за пациентами, достигшими УВО.

Методология и методы диссертационного исследования. В работе использовались клинические, лабораторные и инструментальные методы исследования. Обследовано 112 пациентов с установленным диагнозом ХВГС и 46 здоровых лиц, составивших группу контроля. Все пациенты разделены на группы в зависимости от генотипа HCV, степени ФП, а также его динамики. В ходе исследования рассмотрены изменения фенотипа НК-клеток, возможность восстановления этих нарушений после достижения УВО, при наличии динамики степени ФП или ее отсутствии.

Положения, выносимые на защиту

1. У пациентов с хроническим вирусным гепатитом С 3-й генотип вируса ассоциирован с двукратным повышением риска развития фиброза печени по сравнению с 1-м генотипом. Несмотря на универсальную эффективность препаратов прямого противовирусного действия, обеспечивающих эрадикацию вируса гепатита С независимо от генотипа, сохраняется существенная вариабельность в степени регресса фиброза печени после достижения устойчивого вирусологического ответа.

2. Субпопуляционный состав НК-клеток у больных хроническим вирусным гепатитом С до и после лечения препаратами прямого противовирусного действия не зависит от генотипа HCV и в большей степени связан с активностью воспалительных процессов и уровнем фиброза в печени.

3. С увеличением стадии фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом С до лечения возрастает функциональный дисбаланс НК-клеток, характеризующийся нарушениями в субпопуляционном составе клеток и однонаправленными изменениями в количестве НК-клеток, экспрессирующих активационные и супрессорные рецепторы.

4. Высокий уровень иммунорегуляторного коэффициента цитотоксической активности (ИКЦА), рассчитываемого как соотношение $CD38^+CD73^-$ к $CD38^-CD73^+$ НК-клеткам, является предиктором отсутствия регресса фиброза печени у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С после успешной терапии препаратами прямого противовирусного действия. Пороговое значение ИКЦА $\geq 47,54$ ассоциируется с сохранением степени фиброза, установленной до начала лечения, и может служить критерием для стратификации пациентов с высоким риском сохранения фибротических изменений, несмотря на достижение устойчивого вирусологического ответа.

Степень достоверности. Достоверность полученных результатов определяется дизайном работы, использованием современных методов иммунологического исследования, а также адекватным статистическим анализом. Положения, выносимые на защиту, и выводы основаны на исследовании достаточного объема клинического и лабораторного материала. Выводы, сформулированные по итогам диссертации, обоснованы. Для проведения иммунологического исследования использовалась лабораторная база ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук».

Апробация результатов. Основные положения диссертационного исследования доложены и обсуждены на: ежегодной Всероссийской научно-практической конференции «Иммунология в клинической практике» (Красноярск, 2019, 2021, 2023, 2024); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современные аспекты реабилитации иммунной системы» (Красноярск, 2021); 2-й международной интернет-конференции по инфекционным болезням Покровские чтения (Москва, 2022); 17-м Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням им. академика В. И. Покровского «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы» (Москва, 2025).

Диссертационная работа прошла апробацию на заседаниях профильных проблемных комиссий ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России: «Фундаментальная медицина» (протокол № 4 от 15.11.2022); «Инфекционные болезни. Фтизиатрия. Дерматовенерология» (протокол № 4-2022 от 22.11.2022) и совместном заседании профильных проблемных комиссий «Инфекционные болезни. Дерматовенерология. Фтизиатрия. Гигиена» и «Фундаментальная медицина» (протокол № 01-2025 от 24.06.2025).

Диссертационная работа выполнена в соответствии с утвержденным направлением

научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России по теме: «Особенности изменений фенотипа НК-клеток у больных ХВГС при лечении препаратами прямого противовирусного действия», номер государственной регистрации 123060900006-5.

Тема диссертации утверждена на заседании Ученого совета ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (протокол № 15 от 21.12.2022).

Внедрение результатов исследования. Результаты исследования внедрены в работу инфекционного отделения КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница скорой медицинской помощи им. Н. С. Карповича» (г. Красноярск). Представлены в виде докладов на научно-практических мероприятиях для медицинских работников города Красноярска и Красноярского края.

Теоретические и практические аспекты диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом ПО ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России. Они используются при проведении лекций для клинических ординаторов и слушателей факультета постдипломного образования по специальности «Инфекционные болезни». Материалы диссертации использованы при создании учебного пособия «Хронический гепатит С».

Публикации. По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, в том числе 1 патент на изобретение, 6 статей в научных журналах и изданиях, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 5 статей в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования Scopus и Web of Science.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 168 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного материала. Список литературы представлен 178 источниками, из которых 143 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 29 таблиц и 21 рисунка.

Личный вклад автора. Автором самостоятельно проведен анализ отечественных и зарубежных литературных источников по изучаемой проблеме. Проводилось клиническое обследование и наблюдение пациентов, подготовка крови для проведения иммунологических исследований, осуществлялась интерпретация лабораторно-инструментальных данных. Сформирована база данных, выполнена статистическая и графическая обработка материала, проведена оценка полученных результатов, определена их клиническая и научная значимость, сформулированы выводы и практические рекомендации, подготовлены публикации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось в 2021–2023 гг. на клинической базе кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом ПО (зав. кафедрой – д-р мед. наук, проф.

Е. П. Тихонова) ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (ректор д-р мед. наук, проф. А. В. Протопопов); на базе КГБУЗ «Красноярская межрайонная клиническая больница скорой медицинской помощи им. Н. С. Карповича» (главный врач канд. мед. наук С. В. Гребенников) и ООО «Институт клинической иммунологии» (главный врач канд. мед. наук А. Г. Борисов). Для проведения иммунологического исследования использовалась база ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (директор д-р мед. наук, проф. Э. В. Каспаров; руководитель лаборатории д-р мед. наук, проф. А. А. Савченко). Проведение исследования одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России (протокол №114/2022 от 05.10.2022). Перед исследованием каждый обследуемый был проинформирован об участии в исследовании, ознакомлен с целями, методами и информацией о возможных рисках.

В исследование вошли 112 пациентов (72 мужчины и 40 женщин). Критерии включения в исследование: установленный (в соответствии с клиническими рекомендациями Министерства здравоохранения Российской Федерации от 2021 г.) диагноз ХВГС (наличие в крови суммарных антител классов М и G к HCV и РНК HCV более 6 месяцев); возраст от 18 до 60 лет включительно, жители Красноярского края; определяемый на момент начала терапии ПППД уровень РНК HCV; отрицательный результат скрининга на вирусный гепатит В (HBsAg или ДНК вируса) и ВИЧ-инфекцию (Anti-HIV 1-2 и p24); подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения из исследования: наличие острых (на момент проведения исследования) инфекционных заболеваний, вирусного гепатита В, ВИЧ-инфекции, наличие данных о перенесенной новой коронавирусной инфекции (COVID-19); ЦП класса В и С по шкале Чайлд-Пью (данные ультразвукового исследования органов брюшной полости и забрюшинного пространства, показатели концентрация билирубина, альбумина, протромбинового времени); тяжелые соматические заболевания в анамнезе, способные повлиять на чистоту эксперимента (гормонозависимые эндокринные заболевания, онкологические новообразования, аутоиммунные заболевания); злоупотребление алкоголем (критерием исключения было потребление > 20 мг чистого спирта/сутки у женщин, > 50 мг чистого спирта/сутки у мужчин); прием гепатотоксичных препаратов, в том числе стероидных гормонов; беременность, лактация; отказ выполнять протокол научного исследования.

В контрольную группу вошли 46 практически здоровых лиц обоего пола и аналогичного возрастного диапазона. Констатация «здоровый» была установлена на основании данных анамнеза, результатов биохимических, серологических исследований и соответствовала возрастной и региональной норме. Согласно утвержденному дизайну исследования, работа проводилась в несколько этапов (Рисунок 1).

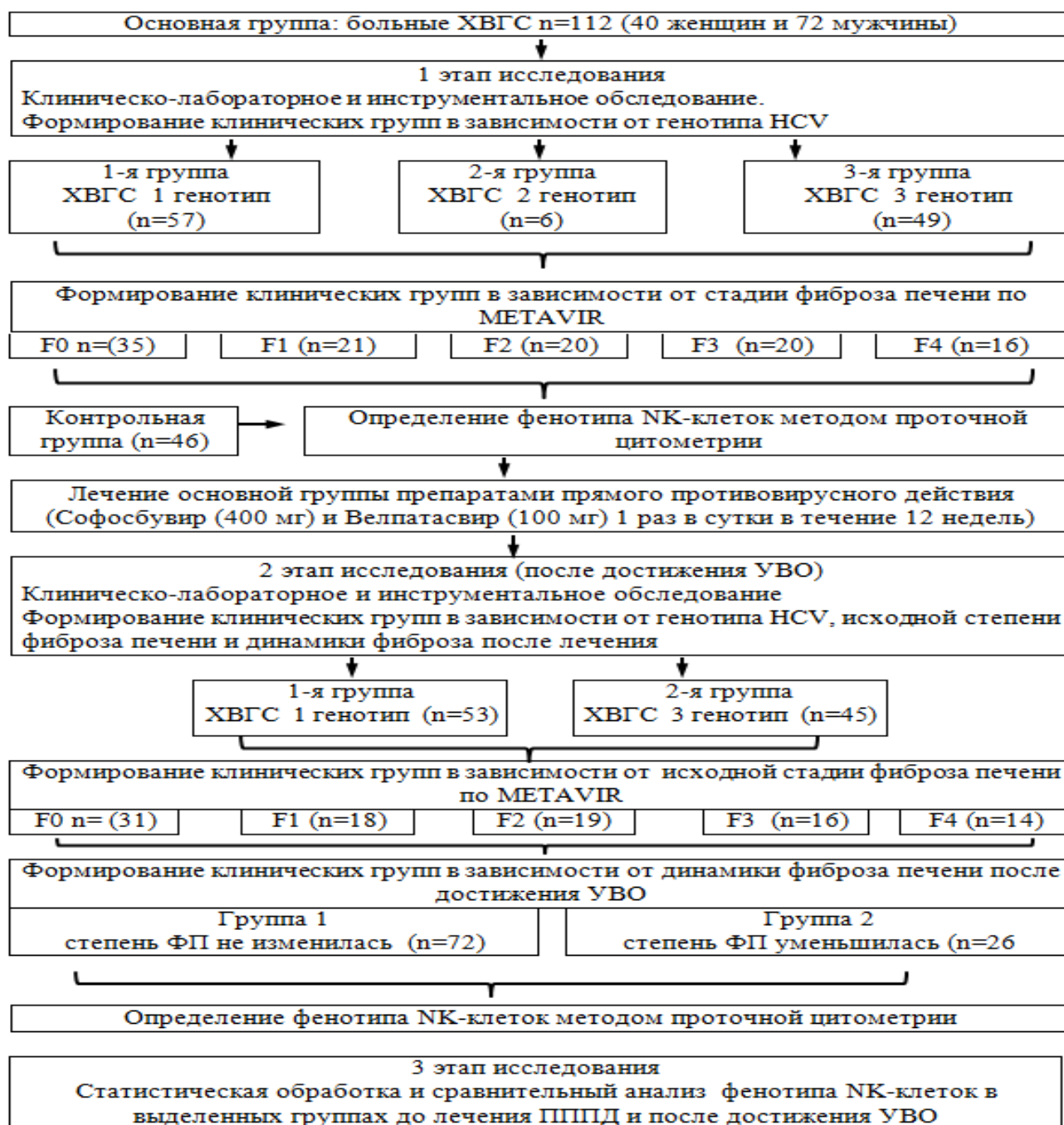


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Первичное обследование включало анкетирование. При анкетировании использовалась специально составленная анкета с регистрацией сведений об эпидемиологическом анамнезе (возможные сроки инфицирования и пути заражения); о ранее проведенной противовирусной терапии, о наличии хронических инфекционных и соматических заболеваний и т. д., о клинических проявлениях (астенический, диспептический синдромы, печеночные и внепеченочные признаки болезни). По результатам опроса, осмотра и обследования, на каждого пациента заполнялась «Индивидуальная регистрационная карта», разработанная в соответствии с целью и задачами исследования.

Инструментальные исследования: Для оценки степени ФП использовали метод сдвиговолновой транзиторной эластометрии, тяжесть изменений оценивалась по шкале METAVIR.

Лабораторные исследования: общий развернутый анализ крови, биохимический анализ крови (общий билирубин и его фракции, аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), креатинин). При F3 и F4 дополнительно определяли уровень альфа-фетопroteина, альбумин и протромбиновое время (ПТВ). РНК HCV определяли методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Фенотипирование NK-клеток осуществляли методом проточной цитометрии с использованием прямой иммунофлуоресценции цельной периферической крови. Для исследования применяли готовые моноклональные антитела производства Beckman Coulter (Индианаполис, Индиана, США). Распределение антител по каналам флуоресценции осуществляли в соответствии с принципами формирования панелей для многоцветных цитофлуориметрических исследований (Кудрявцев И. В. и др., 2015). Подготовку крови для исследования осуществляли по стандартной методике (Sutherland D. et al., 2018), в соответствии с рекомендациями производителей антител. Основываясь на информации, содержащейся в спецификации CD94 (клон HP-3B1, кат. IM2276, Beckman Coulter), проводили изучение экспрессии рецептора CD94/NKG2A на поверхности NK-клеток. Окрашенные клетки анализировали на цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, Inc., USA) Красноярского регионального центра коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН. Для каждого образца крови анализировали не менее 50 000 лимфоцитов (Зурочка А. В. и др., 2018). Дополнительно, по средней интенсивности флуоресценции (MFI), исследовали уровни экспрессии функциональных рецепторов на мембране NK-клеток. Обработку полученных результатов проводили с помощью программного обеспечения Navios Software v. 1.2 и Kaluza v. 2.1.1 (Beckman Coulter).

Использованные схемы терапии. Все больные ХВГС получили ПППД по схеме: софосбувир (400 мг) и велпатасвир (100 мг) один раз в сутки в течение 12 недель. Контроль эффективности терапии проводили через три месяца после окончания лечения.

Статистическая обработка результатов. Нормальность выборки определялась с использованием критериев Шапиро – Уилка и Колмогорова – Смирнова. Для количественных переменных определяли медиану (Me) и интерквартильный размах (Q_1 – Q_3), среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение. Для категориальных переменных рассчитывали отношения шансов (ОШ) и доверительный интервал (ДИ); уровень значимости определяли с помощью точного двустороннего критерия Фишера и Хи-квадрат. Значимость различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна – Уитни, в связанных – по двухвыборочному t-критерию (при нормальном распределении) и по критерию Вилкоксона при непараметрическом распределении. Для оценки изменений исследуемых показателей в зависимости от степени ФП применялся однофакторный ранговый дисперсионный анализ Kruskal – Wallis ANOVA by Ranks. Для исследования силы взаимосвязей показателей вычислялся коэффициент двухсторонней ранговой корреляции по Спирмену. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Обследовано 112 пациентов с установленным диагнозом ХВГС, из них 72 мужчины и 40 женщин (64,3 % и 35,7 % соответственно). Средний возраст пациентов составил $(45,4 \pm 6,8)$ года, наиболее часто встречающийся возраст – 51 год. Продолжительность заболевания (от даты постановки диагноза) менее 5 лет наблюдалась у 38 пациентов (33,9 %), от 5 до 10 лет – у 31 (27,7 %) и 10 и более лет у 43 больных (38,4 %). В этиологической структуре ХВГС преобладал 1-й генотип HCV – 57 человек (50,9 %), на втором месте 3-й – 49 человек (43,8 %), 2-й генотип выявлялся только у 6 больных (5,3 %). Сравнительный анализ (при попарном сравнении) не выявил достоверных различий между группами мужчин и женщин по возрасту, длительности заболевания и распределению генотипов вируса.

Стадия ФП по шкале METAVIR F0 установлена у 31,3 % больных ХВГС (35 человек), F1 – у 18,8 % (21), F2 – у 17,9 % (20), F3 – у 17,9 % (20) и F4 – у 14,3 % (16 человек). В группе пациентов с начальными стадиями фиброза (F0-F1) не выявлено статистически значимых различий по половому признаку, но ФП F2 чаще регистрировался у мужчин, чем у женщин ($p = 0,037$). F3-F4 также преимущественно регистрировался у мужчин ($p = 0,48$) старше 50 лет (63,9 %) с длительностью болезни более 10 лет (61,1 %). ФП F3-F4 с большей частотой выявлялся у больных с 3-м генотипом HCV, чем у пациентов с 1-м генотипом (46,9 % и 21,1 % соответственно, $p < 0,05$). При этом пациенты с 3-м и с 1-м генотипами HCV не имели значимых различий по длительности болезни. Абсолютный риск прогрессирования ФП до развития выраженного ФП и ЦП (F3-F4) у пациентов с 3-м генотипом HCV составил 0,5, что более чем в два раза превышает соответствующий показатель (0,2) у пациентов с 1-м генотипом ($p < 0,05$).

Уровень вирусной нагрузки (ВН) имел достаточно широкий диапазон значений от 360 до $1,9 \times 10^7$ МЕ/мл, медиана $1,8 \times 10^5$ МЕ/мл ($4,7 \times 10^4$ – $6,4 \times 10^5$), мода – $4,0 \times 10^5$ МЕ/мл. У больных, инфицированных 3-м генотипом HCV, чаще определялась более высокая ВН в сочетании с высокой активностью АЛТ, по сравнению с пациентами с 1-м генотипом. Наблюдались различия в клинической картине у больных с разными генотипами HCV. Пациенты с 3-м генотипом имели выраженную симптоматику по сравнению с больными с 1-м генотипом HCV (Рисунок 2).

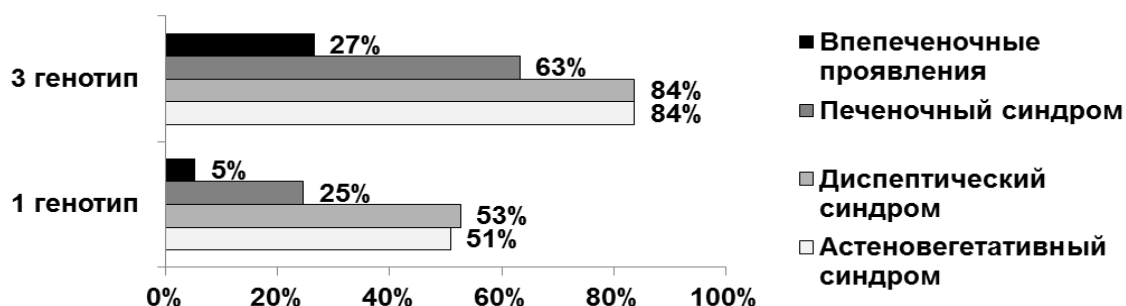


Рисунок 2 – Частота клинических синдромов у больных с ХВГС в зависимости от генотипа HCV

Полученные данные позволяют считать, что в обследуемой популяции течение ХВГС вызванное 3-м генотипом HCV протекало агрессивнее, чем у лиц с 1-м генотипом.

У мужчин концентрация РНК HCV регистрировалась выше, чем у женщин (Me (Q₁–Q₃), 3×10^5 ($5,10 \times 10^4$ – $9,3 \times 10^5$) и $1,0 \times 10^5$ ($4,2 \times 10^4$ – $2,9 \times 10^5$) МЕ/мл соответственно, $p = 0,039$), но после 54 лет уровень РНК HCV начинал увеличиваться (Me (Q₁–Q₃) $8,4 \times 10^4$ ($2,2 \times 10^4$ – $8,4 \times 10^4$), $p = 0,047$). В моделях *in vitro* эстрогены оказывают противовирусное действие и их снижающиеся уровни после менопаузы могут объяснить фазу «догоняющего» заболевания печени, связанного с HCV, наблюдаемые у пожилых женщин (Magri A. et al., 2025).

Различий в ответе на медикаментозное лечение у пациентов с ХВГС с разными генотипами HCV обнаружено не было, лечение ПППД в 100 % случаев привело к УВО. У всех пролеченных отмечалось улучшение самочувствия, снижение активности АЛТ, уровня билирубина в крови, наблюдалось значительное улучшение показателей жесткости печени по сравнению с исходным уровнем.

После достижения УВО степень ФП у 73,5 % пациентов не изменилась, а у 26,5 % уменьшилась. Количество пациентов, отнесенных к F4, после лечения снизилось на 6,1 % ($p = 0,002$), а с F0 увеличилось на 11,6 % ($p = 0,003$) (Рисунок 3), что согласуется с данными современных исследований и подтверждают концепцию о возможности обратного развития ФП и раннего ЦП после успешной эрадикации вируса (Rockey D. C. et al, 2021; Kleczka A. et al, 2023; Mondelli M. U. et al, 2023; Sirinawasatien A. et al, 2024).

У пациентов с третьим генотипом HCV в 6,1 % случаев наблюдалось увеличение показателей жесткости печени. Очевидно, что пациенты с отсутствием регресса ФП после лечения ПППД нуждаются в динамическом наблюдении, несмотря на достижение УВО.

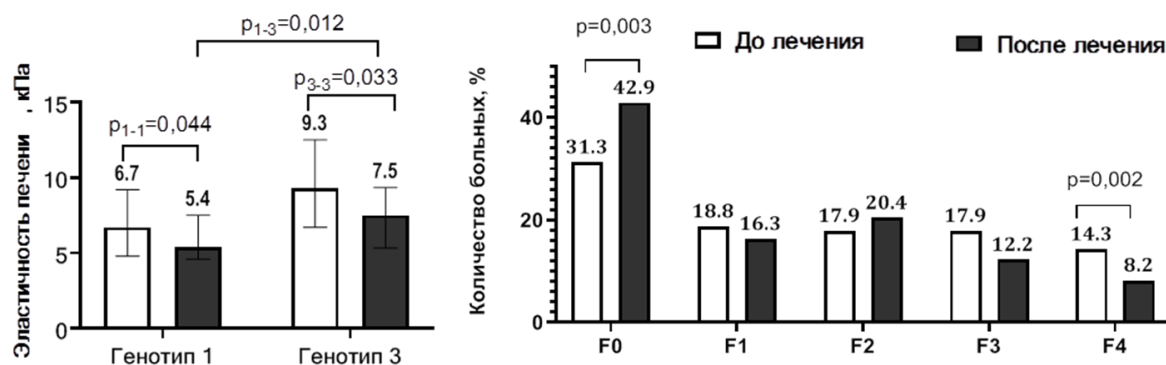


Рисунок 3 – Динамика показателей жесткости печени (Кпа) и степени фиброза печени у больных ХВГС до и после лечения ПППД

В группе пациентов с положительной динамикой ФП после лечения отмечено повышение количества лейкоцитов ($p < 0,001$), лимфоцитов ($p = 0,012$) и тромбоцитов ($p = 0,049$). У пациентов с отсутствием динамики ФП после лечения установлена отрицательная зависимость количества тромбоцитов ($N = 23,83$, $p < 0,001$), лейкоцитов ($N = 13,42$, $p = 0,001$), относительного и абсолютного содержания нейтрофилов ($N = 10,86$, $p = 0,004$ и $N = 10,44$, $p = 0,005$ соответственно) и абсолютного уровня лимфоцитов ($N = 8,50$, $p = 0,014$) от степени ФП.

Особенности фенотипа NK-клеток у больных ХВГС при леченииПППД.

Результат инфекционного заболевания во многом определяется сложным взаимодействием между возбудителями и защитными силами организма. Формирование эффективного противовирусного иммунитета (включая защиту и от HCV) определяется, в том числе, и функциональной активностью NK-клеток, которая, в свою очередь, реализуется в эффекторных (элиминация вируса) и регуляторных реакциях (регуляция противовирусной активности других клеток иммунной системы) (Zhong L. et al., 2023). У больных ХВГС до начала терапии установлено снижение абсолютного и относительного количества NK-клеток (Рисунок 4).

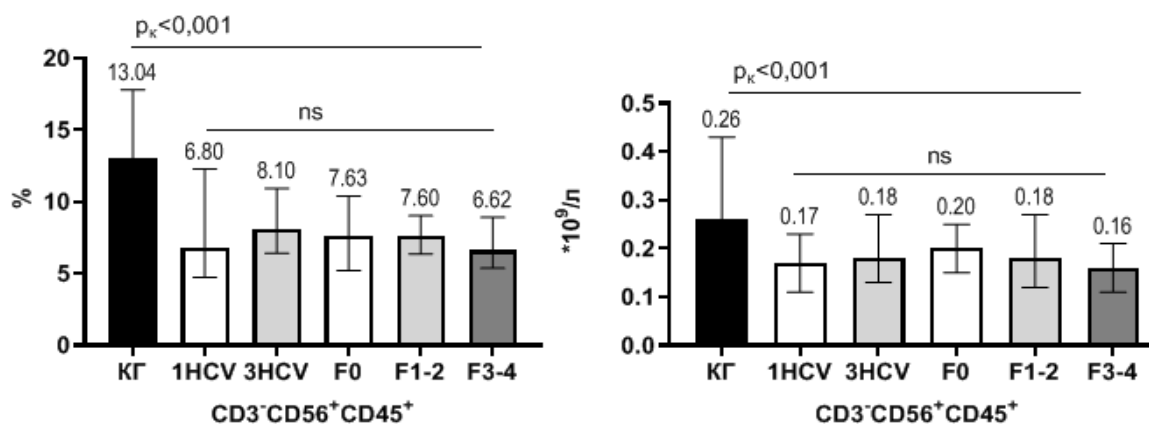


Рисунок 4 – Количество NK-клеток (относительное и абсолютное) у больных ХВГС до терапииПППД (Ме (Q₁–Q₃))

Это снижение носило универсальный характер и не зависело от генотипа HCV и степени ФП, но усугублялось при увеличении срока инфицирования. У больных с длительностью инфекции более 10 лет наблюдалось значимое снижение абсолютного количества NK-клеток, по сравнению с пациентами с длительностью болезни менее пяти лет (Ме (Q₁–Q₃) 0,15 (0,11–0,22) × 10⁹/л и 0,20 (0,13–0,25) × 10⁹/л соответственно, $p = 0,043$). У пациентов с длительностью болезни более 10 лет и сохраняющейся высокой ВН абсолютное количество NK-клеток было минимальным (Ме (Q₁–Q₃) 0,11 (0,09–0,18) × 10⁹/л). Также, установлены различия в количестве NK-клеток у больных ХВГС в зависимости от динамики ФП после достижения УВО. В группе пациентов с регрессом ФП абсолютное количество NK-клеток исходно определялось выше, чем у больных с отсутствием динамики ФП (Ме (Q₁–Q₃) 8,65 (6,74–16,20) % и 7,03 (5,46–9,86) % соответственно, $p = 0,004$ и 0,21 (0,12–0,32) и 0,18 (0,11–0,26) × 10⁹/л, $p = 0,044$). У пациентов с отсутствием динамики ФП обнаружена отрицательная зависимость абсолютного количества NK-клеток ($N = 11,22$, $p = 0,004$) от степени ФП (по Kruskal – Wallis ANOVA by Ranks), что может подтвердить роль NK-клеток в контроле активности звездчатых клеток и развитии ФП (Zhang Y., Wu Y. et al., 2022; Zhang Y., Tong S. et al., 2022).

После успешного лечения и элиминации HCV относительное и абсолютное количество NK-клеток не восстановилось до контрольных показателей и не имело значимых отличий от исходного уровня у пациентов с 1-м и 3-м генотипами и разными стадиями ФП. Только в группе с положительной динамикой ФП абсолютный уровень NK-клеток стал

значительно выше, чем в группе с отсутствием регресса ФП (Me (Q₁–Q₃) 0,29 (0,12–0,38) × 10⁹/л и 0,15 (0,12–0,21) × 10⁹/л соответственно, p = 0,005) и достиг показателей контрольной группы.

Реактивность НК-клеток реализуется за счет экспрессии активационных и адгезионных молекул, а также путем формирования эффективного субпопуляционного состава для успешной элиминации вируса (Ibidapo-Obe O. et al., 2023; Letafati A. et al., 2024; Zhao W. et al., 2024). У больных ХВГС установлено уменьшение доли CD56^{bright} НК-клеток и увеличение доли CD56^{dim} (по сравнению с контролем (Рисунок 5)).

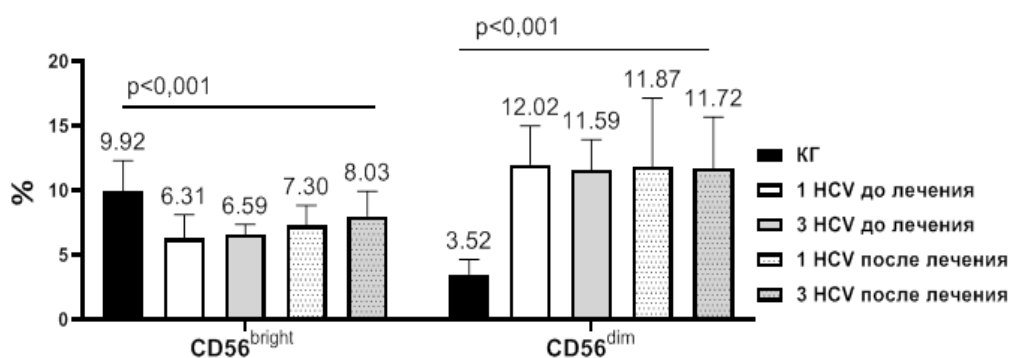


Рисунок 5 – Процент НК-клеток с высокой и низкой экспрессией CD56 у больных ХВГС до и после лечения (Me (Q₁–Q₃))

Длительное преобладание фракции цитотоксических клеток CD56^{dim} (со сниженным уровнем пролиферации) на фоне снижения количества цитокин-синтезирующих (активно пролиферирующих) приводит к истощению НК-клеток и способствует прогрессированию воспаления и персистенции HCV (Ibidapo-Obe O. et al., 2023; Letafati A. et al., 2024; Zhao W. et al., 2024). После достижения УВО у пациентов с ХВГС сохранялся сниженный уровень CD56^{bright} НК-клеток и повышенный CD56^{dim} НК-клеток относительно показателей, выявленных у здоровых людей.

Рецептор CD16 является ключевым для активации НК-клеток и антителозависимой клеточной цитотоксичности, в ходе которой запускается апоптоз клеток-мишеней. При снижении его экспрессии НК-клетки не способны эффективно устранять инфицированные клетки и ограничивать распространение HCV (Gao F. et al., Yang Zhou J., 2023; Letafati A. et al., 2024). У больных ХВГС установлено снижение процентного количества CD56^{bright}CD16⁺ НК-клеток и увеличение доли CD56^{dim}CD16⁺ и относительно контрольных значений. Считается, что при увеличении количества CD56^{dim}CD16⁺ НК-клеток при вирусных инфекциях они становятся гипореактивными (дефектными) (Chin D. S. et al., 2022; Zhong L. et al., 2023; Letafati et al., 2024). Выявленный субпопуляционный дисбаланс усугублялся по мере прогрессирования ФП (Таблица 1).

Таблица 1 – Субпопуляционный состав НК-клеток с экспрессией рецепторов CD16 и CD94 до лечения в зависимости от степени фиброза печени (Me (Q₁–Q₃))

Показатели, %	Контроль (n = 46)	Больные ХВГС		
		фиброз F0 (n = 35)	фиброз F1-F2 (n = 41)	фиброз F3-F4 (n = 36)
CD56 ^{bright} CD16 ⁺	8,02 (4,86–12,52)	6,40 (4,53–7,25)	5,17 (2,65–6,99) p _к = 0,002 p ₁ = 0,048	5,37 (1,14–6,39) p _к < 0,001 p ₁ = 0,016
CD56 ^{dim} CD16 ⁺	1,86 (0,80–2,11)	3,68 (0,65–5,10) p _к = 0,008	3,60 (1,92–7,16) p _к < 0,001	5,47 (2,44–7,98) p _к < 0,00 p ₁ = 0,006
CD56 ^{bright} CD94 ⁺	6,91 (2,98–10,21)	4,04 (2,98–6,43) p _к = 0,011	3,35 (1,39–6,10) p _к < 0,001	3,65 (1,18–4,94) p _к < 0,001
CD56 ^{dim} CD94 ⁺	0,18 (0,06–3,92)	3,47 (1,57–4,99) p _к = 0,002	4,29 (1,59–5,78) p _к < 0,001	4,55 (1,68–5,88) p _к < 0,001
MFI CD94				
CD56 ^{bright}	8,32 (6,36–11,90)	8,95 (7,39–13,92)	10,70 (8,43–13,81) p _к = 0,009 p ₁ = 0,011	10,92 (7,82–16,10) p _к = 0,014
CD56 ^{dim}	6,33 (5,27–8,80)	6,79 (6,07–8,25)	7,79 (7,03–8,89)	8,78 (6,62–11,13) p _к = 0,018; p ₁ = 0,009
Примечание: p _к – статистически значимые различия с показателями контрольной группы; p ₁ – -/- с показателями больных со степенью фиброза F0; p ₂ – -/- с показателями больных со степенью фиброза F1-2.				

До лечения снижение процента CD56^{bright}CD16⁺ НК-клеток относительно контроля установлено только у пациентов с регрессом ФП (Me (Q₁–Q₃) 0,89 (0,68–1,06) и 1,23 (0,55–2,82) соответственно, p = 0,022). Считается, что именно в этой фракции находятся НК-клетки, способные ингибировать функцию Т-лимфоцитов (как за счет плеiotропности синтезируемых цитокинов, так и за счет межклеточных контактов) (Tomer S. et al., 2022; Lauener M. et al., 2023; Rodriguez-Mogeda C. et al., 2024).

После достижения УВО не зарегистрировано восстановления уровня экспрессии CD16 до значений контрольной группы, что подтверждает наличие глубоких и не всегда обратимых изменений в иммунном статусе пациентов, перенесших ХВГС. Повышение количества CD56^{bright}CD16⁺-клеток в крови после лечения (у пациентов с регрессом ФП на 127 %, с неизменившейся степенью ФП на 33,9 %) может указывать на то, что роль НК-клеток с регуляторной функцией становится более значимой после полного удаления HCV и снижения интенсивности воспалительных процессов в печени. Данный вывод подтверждается появлением после лечения отрицательной корреляции между количеством CD56^{bright}CD16⁺-клеток в крови и активностью АЛТ.

Углубленный фенотипический анализ с оценкой ко-экспрессии маркеров CD94, CD8, CD57 и CD62L выявил дополнительные доказательства глубокой перестройки НК-клеток у больных ХВГС. CD94, экспрессируемый на НК-клетках, играет важную роль в их развитии, в толерантности к самим себе, а также способствует опосредованному НК-клетками иммунитету к инфекциям. Экспрессия ингибиторного рецепторного комплекса CD94/NKG2A на дифференцированных НК-клетках может служить индикатором функциональности этих клеток (Wang X. et al., 2022). Установлено, что у пациентов с ХВГС не было выявлено различий в общем количестве НК-клеток, несущих на своей поверхности CD94, по сравнению с контрольной группой. Но выявлен дисбаланс в соотношении количества CD56^{bright}CD94⁺ и CD56^{dim}CD94⁺ НК-клеток (см. Таблицу 1). У здоровых людей уровень CD56^{bright}CD94⁺ в 38,4 раза превышал содержание CD56^{dim}CD94⁺-клеток, тогда как у больных ХВГС содержание НК-клеток с фенотипами CD56^{bright}CD94⁺ и CD56^{dim}CD94⁺ было практически одинаковым. Данные различия обусловлены снижением количества CD56^{bright}-клеток, экспрессирующих CD94 (в составе комплекса с NKG2A) и увеличение CD56^{dim} экспрессирующих этот рецептор (независимо от генотипа и последующего изменения степени ФП). Уровень экспрессии CD94, оцениваемый по средней интенсивности флуоресценции (MFI), повышался при увеличении степени ФП как на цитотоксических, так и на регуляторных НК-клетках. Плотность экспрессии CD94 на CD56^{dim}НК-клетках (MFI) была выше у пациентов с F3-F4. Повышенная экспрессия ингибиторного комплекса CD94/NKG2A на CD56^{dim}НК-клетках может отражать компенсаторный механизм, направленный на ограничение их цитотоксического потенциала в условиях хронической иммунной активации.

У больных без динамики ФП до лечения отмечалось повышение экспрессии CD94/NKG2A на мембранах цитокин-продуцирующих клеток ($p = 0,003$) по сравнению с контролем, также в этой группе выявлена положительная зависимость по распределению значений MFI CD94 на мембране CD56^{dim}CD94⁺-клеток ($N = 10,60$, $p = 0,005$). У пациентов с регрессом ФП таких изменений выявлено не было.

После достижения УВО установлена отрицательная зависимость количества CD56^{bright}CD94⁺-клеток от степени ФП ($N = 7,54$, $p = 0,023$). Считается, что количество этих клеток положительно коррелирует с внутрипеченочным уровнем цитокин-продуцирующих НК-клеток, синтезирующих ИФН- γ и обладающих антифибротической активностью (Zhang X. Et et al., 2022; Kleczka A. et al., 2023).

CD8⁺-НК-клетки обладают повышенным цитотоксическим потенциалом и выживаемостью в процессе лизиса клеток-мишеней (McKinney E. F. et al., 2021). У больных ХВГС выявлены изменения в различных фракциях НК-клеток в зависимости от экспрессии рецептора CD8. Общее количество CD8⁺НК-клеток у пациентов с 1-м и 3-м генотипом HCV не имело значимых различий с показателями контроля и между собой, но процент цитотоксических CD56^{dim}CD8⁺НК-клеток был выше ($p < 0,001$). Максимальный процент НК-клеток с фенотипом CD56^{dim}CD16⁻CD8⁺ установлен при ФП F3-F4. Также выявлена положительная зависимость количества CD56^{dim}CD16⁻CD8⁺-клеток от степени ФП ($N = 8,56$, $p = 0,014$).

У больных ХВГС, независимо от генотипа, не зарегистрировано статистически значимых отличий в проценте клеток, экспрессирующих CD57 и CD62L, по сравнению с контролем. Экспрессия CD57 на NK-клетках зависит от нескольких ключевых факторов, включая стадию дифференцировки, функциональное состояние, хроническую антигенную стимуляцию и патологические процессы (Liu B. et al., 2022). Установлено, что у больных ХВГС уровень экспрессии CD57 возрастал на цитотоксических ($CD56^{\text{dim}}CD16^+$) NK-клетках по сравнению с контролем ($p < 0,001$), а на регуляторных ($CD56^{\text{bright}}CD16^-$) NK-клетках не отличался от показателей здоровых людей. У больных ХВГС отмечено увеличение популяции цитотоксических $CD56^{\text{dim}}CD16^+CD57^+$ NK-клеток ($p < 0,001$), характеризующихся повышенной чувствительностью к активации через CD16-рецептор. Сдвиг в сторону CD16-гиперчувствительных NK-клеток можно рассматривать как адаптацию иммунной системы к текущим патологическим условиям. Но чрезмерная активация через CD16 может приводить к повреждению ткани печени (аутоиммунные реакции) и истощению NK-клеток при хронической антигенной стимуляции. У пациентов с регрессом ФП количество $CD57^+$ NK-клеток исходно было выше, чем у пациентов с отсутствием динамики ФП.

NK-клетки $CD62L^+$ содержат большее количество гранзима В и проявляют большую цитолитическую активность, чем $CD62L^-$ клетки. Рецептор CD62L необходим для накопления и созревания NK-клеток в печени. Доказано, что процент NK-клеток с фенотипом $CD62L^+$ в периферической крови положительно коррелирует с содержанием NK-клеток в печени (Kleczka A. et al., 2023). Установлено, что у пациентов с F0-F1 доля $CD62L^+CD57^+$ -клеток была выше, чем у больных с ФП F3-F4 ($p < 0,001$). Уровень этих клеток у пациентов с положительной динамикой ФП был ниже, чем в группе пациентов с отсутствием динамики (Me (Q_1-Q_3) 0,25 (0,14–0,70) и 0,63 (0,22–1,00) соответственно, $p = 0,031$).

Выявленный дисбаланс субпопуляций регуляторных и цитотоксических NK-клеток в зависимости от экспрессии рецепторов CD94, CD8, CD57 и CD62L, в целом сохранился и после достижения УВО.

Взаимодействие CD38 на мембране активированных NK-клеток с лигандом немедленно вызывает цитотоксический ответ с высвобождением гранзимов и цитокинов, а экспрессия рецептора CD73 на поверхности NK-клеток приводит к формированию иммуносупрессивного фенотипа (Gao F. et al., 2022). У больных ХВГС независимо от генотипа и стадии ФП выявлено снижение количества NK-клеток, экспрессирующих $CD38^+$ ($p < 0,001$) и повышение клеток с экспрессией $CD73^+$ ($p < 0,001$). Также у больных ХВГС отмечалось повышение содержания NK-клеток с фенотипом $CD38^+CD73^+$ (Таблица 2), именно той фракции NK-клеток, которая максимально реализует иммунорегуляторные функции.

Таблица 2 – Субпопуляционный состав НК-клеток с экспрессией рецепторов CD38 и CD73 в зависимости от изменений степени фиброза печени (Me (Q₁–Q₃))

Показатели	Контроль (n = 46)	Больные ХВГС			
		группа 1 (степень ФП после лечения не изменилась) (n = 72)		группа 2 (степень ФП после лечения ПППД уменьшилась) (n = 26)	
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
CD38 ⁺ CD73 ⁻ , %	10,60 (5,79– 14,82)	5,58 (3,14– 8,26) p _к < 0,001	4,38 (2,10– 7,45) p _к < 0,001	2,96 (1,44– 5,43) p _к < 0,001 p ₁₋₂ = 0,013	4,87 (1,38– 11,71) p _к = 0,015 p ₂₋₂ = 0,002
CD38 ⁺ CD73 ⁺ , %	0,11 (0,03– 0,26)	0,49 (0,17– 0,71) p _к < 0,001	0,56 (0,33– 0,85) p _к < 0,001	0,45 (0,18– 0,74) p _к < 0,001	0,24 (0,08– 0,75) p _к = 0,035 p ₂₋₂ = 0,010
CD38 ⁻ CD73 ⁻ , %	1,50 (1,23– 3,01)	0,70 (0,36– 1,13) p _к < 0,001	0,93 (0,31– 1,38) p _к < 0,001	1,31 (0,86– 2,53) p ₁₋₂ < 0,001	0,55 (0,32– 1,42) p _к < 0,001
CD38 ⁻ CD73 ⁺ , %	0,04 (0,02– 0,28)	0,06 (0,04– 0,13)	0,08 (0,04– 0,14)	0,12 (0,05– 0,18) p ₁₋₂ = 0,013	0,07 (0,045– 0,101)

Примечание: процент НК-клеток представлен как доля от общей популяции лимфоцитов, MFI-как доля от НК-клеток; p_к – статистически значимые различия по сравнению с контролем; p₁₋₂ – статистически значимые различия между пациентами 1-й и 2-й групп; p₁₋₁ – статистически значимые различия между пациентами 1-й группы до и после лечения; p₂₋₂ – статистически значимые различия между пациентами 2-й группы до и после лечения.

У больных с тяжёлой формой ФП F3-F4 процент дважды позитивных CD38⁺CD73⁺ НК-клеток был выше, чем у пациентов без ФП и пациентов с легкой и умеренной степенью ФП (p = 0,012 и p = 0,036).

У пациентов с отсутствием динамики ФП до начала лечения выявляется положительная зависимость количества CD38⁺CD73⁺НК-клеток от степени ФП, а пациентов с регрессом ФП такой зависимости не обнаружено. В группе пациентов с положительной динамикой ФП процент НК-клеток с фенотипами CD38⁻CD73⁻ и CD38⁻CD73⁺ был больше, чем в группе с отсутствием динамики. Соотношение CD38⁺CD73⁻ и CD38⁻CD73⁺ НК-клеток отражает баланс между цитотоксической и противовоспалительной функциями НК-клеток, что в итоге может определять механизмы формирования ФП.

Для прогноза динамики ФП у больных ХВГС достигших УВО, рассчитан иммунорегуляторный коэффициент цитотоксической активности (ИКЦА), представляющий собой соотношение процентного количества CD38⁺CD73⁻ НК-клеток к процентному количеству

CD38⁻CD73⁺NK-клеток (ИКЦА = CD38⁺CD73⁻ NK-клетки / CD38⁻CD73⁺ NK-клетки). При значении ИКЦА равном или выше 47,54 прогнозируется отсутствие снижения степени ФП у больных ХВГС после леченияПППД относительно уровня, выявленного до начала лечения, а при ИКЦА ниже 47,54 – снижение степени ФП по сравнению с исходным уровнем. Значение ИКЦА $\geq 47,54$ отражает повышенную цитотоксическую активность NK-клеток. Пороговое значение 47,54 получено расчетным путем при сравнении данных ИЦКА и результатов обследования пациентов после УВО. Указанный «Способ прогнозирования отсутствия снижения степени фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом С после лечения препаратами прямого противовирусного действия» защищен патентным правом Российской Федерации.

ВЫВОДЫ

1. Среди обследованных больных хроническим вирусным гепатитом С преобладали пациенты с 1-м (50,9 %) и 3-м (43,8 %) генотипами HCV и длительностью заболевания более 5 лет (66,1 %). Фиброз печени в стадии F3-F4 по METAVIR чаще регистрировался у мужчин (63,9 %) в возрасте старше 50 лет и длительностью болезни более 10 лет. У больных хроническим вирусным гепатитом С инфицированных третьим генотипом HCV фиброз в стадии F3-F4 по METAVIR выявлялся в два раза чаще, чем у пациентов с первым генотипом (46,9 % и 21,1 % соответственно) при отсутствии значимых различий по длительности болезни. Абсолютный риск развития фиброза печени в стадии F3-F4 по METAVIR у пациентов с третьим генотипом HCV выше, чем у пациентов с первым генотипом HCV ($p < 0,05$).

2. Лечение препаратами прямого противовирусного действия вне зависимости от генотипа HCV в 100 % случаев приводило к устойчивому вирусологическому ответу, купированию клинических симптомов, снижению активности АЛТ и уровня билирубина в сыворотке крови. У 26,5 % пациентов после достижения устойчивого вирусологического ответа отмечался регресс фиброза печени. У пациентов с третьим генотипом HCV в 6,1 % случаев наблюдалось увеличение показателей жесткости печени.

3. У больных хроническим вирусным гепатитом С независимо от генотипа вируса установлено уменьшение относительного и абсолютного количества NK-клеток. Изменения фенотипа NK-клеток до лечения характеризовались снижением количества цитокин-продуцирующих (CD56^{bright}) и повышением уровня цитотоксических (CD56^{dim}) NK-клеток, а также соответствующим содержанием клеточных фракций с экспрессией рецепторов CD8, CD57 и CD94, что указывает на дисфункцию и формирование хронической активации NK-клеток. После лечения препаратами прямого противовирусного действия выявленный дисбаланс в субпопуляционном составе NK-клеток сохранялся.

4. Вне зависимости от степени фиброза печени у всех больных до лечения регистрировался высокий уровень цитотоксических NK-клеток, но количество цитокин-продуцирующих NK-клеток зависело от степени фиброза печени и снижалось по мере его прогрессирования. Функциональный дисбаланс NK-клеток при повышении степени фиброза печени формировался за счет увеличения содержания CD57⁺NK-клеток и последовательной активации экспрессии рецепторного комплекса CD94/NKG2A. У пациентов с отсутствием динамики фиброза печени зарегистрировано увеличенное содержание CD56⁺CD38⁺-клеток

и повышенный уровень экспрессии рецепторного комплекса CD94/NKG2A на мембранах цитокин-продуцирующих клеток. У пациентов с регрессом фиброза печени отмечено повышенное содержание CD8⁺, CD57⁺ и CD73⁺ NK-клеток.

5. После лечения у пациентов с тяжелой степенью фиброза печени установлено увеличение количества незрелых цитокин-продуцирующих CD8⁺NK-клеток. У пациентов с неизменившейся степенью фиброза печени по сравнению с пациентами с регрессом фиброза печени уровень экспрессии CD57 на NK-клетках был ниже, за счет фракций незрелых цитокин-продуцирующих клеток и цитотоксических NK-клеток, экспрессирующих рецептор CD62L. У больных с регрессом фиброза печени наблюдалось уменьшение популяции CD8⁺NK-клеток, что свидетельствует о ключевой роли регуляторных NK-клеток в снижении интенсивности воспалительных процессов в печени после эрадикации HCV.

6. Использование иммунорегуляторного коэффициента цитотоксической активности (ИКЦА = $\text{CD38}^+\text{CD73}^- \text{ NK-клетки} / \text{CD38}^-\text{CD73}^+ \text{ NK-клетки}$) позволяет прогнозировать отсутствие изменений или регресс фиброза печени (уменьшение воспаления) у больных хроническим вирусным гепатитом С после лечения препаратами прямого противовирусного действия. При значении иммунорегуляторного коэффициента цитотоксической активности равном или выше 47,54 можно прогнозировать отсутствие снижения степени фиброза печени, а при иммунорегуляторном коэффициенте цитотоксической активности ниже 47,54 – снижение степени фиброза после противовирусной терапии по сравнению с исходным уровнем.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется включить в программу мониторинга пациентов с хроническим вирусным гепатитом С комплексное исследование NK-клеток (абсолютное и относительное количество, субпопуляционный анализ CD56^{bright} и CD56^{dim}), что позволит оценить функциональный резерв иммунной системы и прогнозировать течение заболевания.

2. Для выявления пациентов с высоким риском прогрессирования фиброза печени после достижения устойчивого вирусологического ответа рекомендуется перед началом терапии препаратами прямого противовирусного действия провести исследование экспрессии рецепторов CD38 и CD73 на NK-клетках и рассчитать иммунорегуляторный коэффициент цитотоксической активности (ИКЦА = $\text{CD38}^+\text{CD73}^- \text{ NK-клетки} / \text{CD38}^-\text{CD73}^+ \text{ NK-клетки}$).

3. Значение иммунорегуляторного коэффициента цитотоксической активности равное или выше 47,54 служит неблагоприятным прогностическим признаком прогрессирования фиброза печени. Данная группа пациентов требует индивидуального подхода с регулярной оценкой состояния жесткости печени после терапии препаратами прямого противовирусного действия.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Зависимость фенотипического состава Т-лимфоцитов у больных хроническим вирусным гепатитом С от генотипа вируса (до и после лечения препаратами прямого противовирусного действия) / А. А. Савченко, В. В. Цуканов, И. В. Кудрявцев [и др., в том числе **А. А. Анисимова**] // **Инфекция и иммунитет**. – 2021. – Vol. 11, № 6. – Р. 1141–1151.
2. Иммунологические изменения на фоне терапии препаратами прямого противовирусного действия у больных хроническим гепатитом С / **А. А. Анисимова**, Е. П. Тихонова, А. А. Савченко [и др.] // **Журнал инфектологии**. – 2022. – Т. 14, № 2. – С. 11.
3. Особенности фенотипа В-лимфоцитов у больных хроническим вирусным гепатитом С в зависимости от генотипа вируса (до и после лечения препаратами прямого противовирусного действия) / А. А. Савченко, Е. П. Тихонова, В. Д. Беленюк [и др., в том числе **А. А. Анисимова**] // **Инфекционные болезни**. – 2022. – Т. 20, № 1. – С. 74–81.
4. Особенности фенотипа NK-клеток у больных хроническим гепатитом С / **А. А. Анисимова**, Е. П. Тихонова, А. А. Савченко [и др.] // **Журнал инфектологии**. – 2023. – Т. 15, № 1. – С. 8–9.
5. Features of NK cell phenotype virus genotype-driven chronic viral hepatitis C / A. A. Savchenko, E. P. Tikhonova, **A. A. Anisimova** [et al.] // **Инфекция и иммунитет**. – 2023. – Vol. 13, № 4. – Р. 663–674.
6. Взаимосвязь фенотипа NKT-клеток и степени фиброза печени у больных хроническим гепатитом С до и после лечения / А. А. Савченко, Е. П. Тихонова, **А. А. Анисимова** [и др.] // **Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы**. – 2024. – Т. 14, № 4. – С. 60–69.
7. **Патент № 2841837 С1** Российская Федерация, МПК G01N 33/49, G01N 33/53. Способ прогнозирования отсутствия снижения степени фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом С после лечения препаратами прямого противовирусного действия : № 2025105957: заявл. 14.03.2025 : опубл. 17.06.2025 / Савченко А. А., Каспаров Э. В., Тихонова Е. П., Цуканов В. В., **Анисимова А. А.**, Тонких Ю. Л., Васютин А. В., Анисимова Е. Н., Борисов А. Г. ; заявитель и патентообладатель ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН». – 10 с.
8. Содержание NK-клеток, экспрессирующих CD38 и CD73, у больных хроническим гепатитом С / **А. А. Анисимова**, Е. П. Тихонова, А. А. Савченко [и др.] // **Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы : сб. трудов XV Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням имени академика В. И. Покровского**. – Москва : Медицинское Маркетинговое агентство, 2023. – С. 10.
9. Association of Blood NK Cell Phenotype with the Severity of Liver Fibrosis in Patients with Chronic Viral Hepatitis C with Genotype 1 or 3 / V. V. Tsukanov, A. A. Savchenko, M. A. Cherepnin [et al. included **A. A. Anisimova**] // **Diagnostics**. – 2024. – Vol. 14, № 5 (472). – Р. 3–14.
10. **Анисимова, А. А.** Взаимосвязь фенотипа NK-клеток и степени фиброза печени у пациентов с ХВГС на фоне противовирусной терапии / **А. А. Анисимова** // **Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы : сб. трудов XVII**

Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням имени академика В. И. Покровского. – Москва : Медицинское Маркетинговое агентство, 2025. – С. 15.

11. Хронический гепатит С: лабораторные и морфологические параллели в зависимости от генотипа вируса / **А. А. Анисимова**, Е. П. Тихонова, Т. П. Шишикина [и др.] // Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы : сб. трудов XVII Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням имени академика В. И. Покровского. – Москва : Медицинское Маркетинговое агентство, 2025. – С. 16.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АЛТ	аланиновая аминотрансфераза
АСТ	аспарагиновая аминотрансфераза
ВН	вирусная нагрузка
ГЦК	гепатоцеллюлярная карцинома
ИКЦА	иммунорегуляторный коэффициент цитотоксической активности
ПППД	препараты прямого противовирусного действия
УВО	устойчивый вирусологический ответ
ФП	фиброз печени
ХВГС	хронический вирусный гепатит С
ЦП	цирроз печени
CD	антиген кластеров дифференцировки клеток (англ. cell differentiation antigens или cluster definition)
F0	отсутствие фиброза (менее 5,8 кПа)
F1	фиброз портальных трактов без септа (слабый фиброз) (5,9–7,2 кПа)
F2	портальный и перипортальный фиброз с небольшим количеством септ (умеренный фиброз) (7,3–9,5 кПа)
F3	портальный и перипортальный фиброз с большим количеством септ (выраженный фиброз) (9,6–12,5 кПа)
F4	цирроз печени (более 12,5 кПа)
HCV	вирус гепатита С (англ. hepatitis C virus)
MFI	средняя интенсивность флуоресценции (анг. mean fluorescence intensity)
NK	естественные или натуральные киллеры (англ. Natural Killer)