МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. М. І. ПИРОГОВА
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. М. І. ПИРОГОВА

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

СОНІ СУБХАШ ЧАНД

УДК: 61.98:616.36-002-037

ДИСЕРТАЦІЯ
КЛІНІКО-ЕПІДЕМІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ТА ПОТЕНЦІЙНІ ЧИННИКИ ВИЗНАЧЕННЯ ПРОГНОЗУ ХРОНІЧНОГО ВІРУСНОГО ГЕПАТИТУ В У ВІЛ-ІНФІКОВАНИХ ОСІБ

14.01.13 – інфекційні хвороби
22 охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.
_____ С. Ч. Соні

Науковий керівник: **Мороз Лариса Василівна**, доктор медичних наук, професор

Вінниця – 2019

АНОТАЦІЯ

Соні С. Ч. Клініко-епідеміологічні особливості та потенційні чинники визначення прогнозу хронічного вірусного гепатиту В у ВІЛ-інфікованих осіб. – Кваліфікаційна наукова праця направах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.13. «Інфекційні хвороби» (22 – Охорона здоров'я). – Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2019.

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, МОЗ України, Вінниця, 2019.

Дисертаційна робота здобувача присвячена дослідженню клініко-епідеміологічних особливостей та потенційних чинників визначення прогнозу хронічного гепатиту В (ХГВ) у ВІЛ (HIV)-інфікованих осіб на основі визначення ролі інтерлейкину-17А (IL-17A) та хемокіну IP-10 (IP-10) в сироватці крові на його перебіг.

Доповнені наукові дані про епідеміологічні аспекти поширеності ХГВ та ВІЛ-інфекції серед мешканців Західної провінції Замбії, статеві та вікові особливості захворюваності. За територіальною поширеністю найвища частка донорів, інфікованих вірусами гепатиту В (HBV), гепатиту С (HCV) та ВІЛ визначалась у регіоні Limulunga ($p<0,05$). В цьому регіоні поширеність HBV-інфекції склала 7,06%, що було достовірно вище за розповсюдженість HCV-інфекції (1,72%) та HBV/HIV-коінфекції (0,23%) ($p=0,001$). Подібна картина спостерігалася і в інших районах провінції. Проведений аналіз динаміки поширеності HBV-інфекції в західній провінції Замбії встановив, що за останні п'ять років кількість інфікованих донорів зменшилась в 1,65 рази. Серед донорів чоловіків найвищий відсоток інфікованості припадав на HBV-інфекцію (8,86%), ($p<0,005$). Зафіксовано достовірно вищий в 1,11 разів відсоток HBV-інфікованих в порівнянні з HIV-інфікованими серед чоловіків. Серед донорів жіночої статі кількість HBV-інфікованих була в 4,22 рази

більшою, ніж HCV-інфікованих. Встановлено, що серед HBV-інфікованих донорів більше половини (59,3%) складали особи в віці старше 39 років, яких було в 2,08 рази більше ніж серед HIV-інфікованих.

Встановлені основні клінічні особливості перебігу ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції, що проявляються превалюванням серед хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ в 1,13-7,73 рази частіше таких ознак, як гепатомегалія, спленомегалія, та астено-вегетативного, диспепсичного синдромів порівняно з ХГВ-моноінфікованими пацієнтами. Показники синдрому цитолізу (аланініамногтрансфераза та аспартатамінотрансфераза) у пацієнтів з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції були в 1,14 та 1,20 рази вищими, ніж аналогічні показники у хворих з моноінфекцією ХГВ та пропропорційно залежали від рівня імуносупресії (зниження CD4). Всі показники синдрому холестазу були підвищені в групі хворих з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції. Рівні загального білірубіну та ЛФ в сироватці крові у пацієнтів з коінфекцією ХГВ/ВІЛ були в 1,11 рази вищим ніж у пацієнтів з ХГВ, а прямого та непрямого білірубіну в сироватці крові - в 1,14 та 1,22 рази відповідно. Фіксувався також достовірно вищий рівень γГГТ в сироватці крові ($p=0,045$). Серед показників печінково-клітинної недостатності спостерігалося зростання в 2,31 рази рівня α-фетопротеїн в сироватці крові у хворих на ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції, що вказувало на можливість швидкого формування не тільки цирозу печінки, але й гепатоцелюлярної карциноми у даної групи. Отримані результати вказують на більш тяжкий перебіг ХГВ у хворих з наявністю коінфекції ВІЛ.

Наукова новизна одержаних результатів

Доповнені дані щодо особливостей морфологічних змін печінки у пацієнтів при ХГВ/ВІЛ-коінфекції за результатами імуногістохімічного дослідження біоптатів печінки. В тканині печінки виявлялися патогомонічні ознаки HBV-інфекції у вигляді «матово-склоподібних» гепатоцитів, що відображали нерівномірність вмісту глікогену і РНК в різних печінкових клітинах, гідропічної дистрофії гепатоцитів та присутність

запальноклітинного лімфоцитарного інфільтрату різного ступеню та фіброзу печінки. Присутність останніх в кінцевих стадіях призводила до формування цирозу печінки. Ознаки гідропічної дистрофії гепатоцитів були поєднанні з дрібно- та крупновакуольною жировою дистрофією гепатоцитів, що вказувало на більш глибоке ушкодження тканини печінки при коінфекції ХГВ/ВІЛ. Пошкодження і деструкція гепатоцитів були обумовлені дією імунних механізмів за участю Т-лімфоцитів, продукти розпаду клітин, в свою чергу, захоплювалися макрофагами. Тому осередки некрозу паренхіми, як правило, містили лімфоїдно-макрофагальний інфільтрат (некро-запальна активність). Імуногістохімічною (ІГХ) патогомонічною ознакою пошкодження в нашому дослідженні була ІГХ-реакція з Hep Par 1 (Clone OCH1E5.2.10), що проявлялася цитоплазматичною експресією в вигляді гранул в зоні мітохондріальних мембран. В тканині печінки при ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції відбувалася активація репаративної дуктулярної реакції, що призводило в подальшому до утворення нових псевдочасточок та розвитку цирозу печінки.

Були визначені діагностичні рівні IL-17A та IP-10 в сироватці крові у практично здорових осіб групи контролю, хворих основної групи з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції та групи порівняння з ХГВ. У пацієнтів з коінфекцією ХГВ/ВІЛ та пацієнтів з моноінфекцією ХГВ спостерігалося підвищення вмісту IL-17A та IP-10 в сироватці крові в 6,43 і 4,14 та 8,35 і 5,59 рази, відповідно, в порівнянні зі здоровими особами. При цьому вміст даних показників в сироватці крові був достовірно вищим у хворих на ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції, IL-17A в 1,55 рази, а IP-10 – в 1,49 рази, відповідно.

Встановлено достовірне зростання вмісту IL-17A та IP-10 в сироватці крові відповідно збільшенню активності запального процесу ($p<0,05$). Так, рівень IL-17A в сироватці крові у хворих з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції з середньою активністю запального процесу був в 4,14 рази вищим в порівнянні з хворими з низькою активністю. Серед хворих з високим

ступенем активності запального процесу вміст даного показника був вже в 6,42 рази вищим.

За нашими даними, зростання IL-17A корелювало зі збільшенням ступеня фіброзу печінки($p<0,05$; $r=0,52$). В групі хворих з коінфекцією та фібротичними змінами F1- F2, вміст IL-17A в сироватці крові був в 1,44 рази вищим ніж в групі хворих з моноінфекцією ХГВ, за наявності ступеню фіброзу F3- F4 вміст IL-17A в сироватці крові хворих з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції був в 1,63 рази вищим порівняно з моноінфекцією ХГВ. Також нами був встановлений сильний кореляційний зв'язок між вмістом IP-10 в сироватці крові та ступенем фіброзу печінки ($p<0,05$; $r=0,60$).

Виявлена висока діагностична інформативність визначення рівня IP-10 в сироватці крові ХГВ/ВІЛ-коінфікованих хворих для виділення групи хворих з вираженим фіброзом та цирозом печінки (F3-F4) (чутливість 97,1 %; специфічність 66,9 %; AUC 0,821, $p=0,001$). Доведено ризик розвитку фіброзу печінки F3- F4 при підвищенні вмісту IL-17A вище 19.00 пг/мл (OR=2,373; 95% CI 1.201 – 4.689) та вмісту IP-10 вище 400.00 пг/мл в (OR=4.089; 95% CI 1.851 – 9.031).

Результати наших досліджень статистично достовірно доводять доцільність дослідження та застосування IL-17A та IP-10 в якості маркерів фібротичних змін в печінці, що впливають на процес прогресування захворювання в більшій мірі у пацієнтів з коінфекцією HBV/ HIV.

Практичне значення отриманих результатів

Проведені клінічні дослідження дозволили отримати додаткові дані про клінічні особливості перебігу ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції за допомогою визначення прямих та непрямих маркерів фіброзоутворення для встановлення різних стадій фіброза печінки та прогнозування перебігу захворювання. Проведена порівняльна характеристика діагностичної інформативності різних серологічних маркерів фіброзоутворення дозволила удосконалити та деталізувати існуючи діагностичні протоколи щодо

визначення та прогнозу прогресування фіброзу печінки.

Запропоновано впровадити визначення IL-17A, IP-10 в сироватці крові у пацієнтів з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції як маркерів фіброзоутворення в клінічну роботу лікаря-інфекціоніста, гастроентеролога, гепатолога.

Встановлені межові рівні IL-17A та IP-10 в сироватці крові, що дозволяють з високою чутливістю та специфічністю визначати стадії фіброзу та важкість перебігу ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції.

Ключові слова: хронічний гепатит В, ВІЛ-інфекція, фіброз печінки, інтерлейкін 17А, хемокін IP-10.

Список публікацій здобувача:

1. Мороз, Л. В., Соні, С. Ч. (2018). Поширеність HIV, HBV, HCV інфекцій серед здорових донорів західної провінції Замбії. *Гепатологія,* 4 (42). 38–44. *(Дисертанту належать узагальнення літературних джерел, статистична обробка отриманих результатів дослідження, технічне оформлення роботи).*
2. Мороз, Л. В., Соні, С. Ч., Бевз, Т. І. Чічірельо-Константинович, К. Д. (2019). Рівні IL-17A, IP-10 в сироватці крові у пацієнтів з HBV-інфекцією та HBV/HIV-коінфекцією у західній провінції Замбії. *Гепатологія,* 2 (44). 6–11. *(Дисертанту належать розробка дизайну дослідження, підбір тематичних хворих, узагальнення літературних джерел, формулювання висновків).*
3. Мороз, Л. В., Соні, С. Ч., Чічірельо-Константинович, К. Д., Куляс, С. М. (2019). Клініко-лабораторні особливості перебігу ВГВ у ВІЛ-інфікованих хворих Замбії. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 2 (23). 257-262. *(Дисертанту належать розробка дизайну дослідження, підбір тематичних хворих, узагальнення літературних джерел, формулювання висновків).*
4. Moroz, L., Soni, S., Dudnyk, V., & Zaichko, N. (2019). Predictive value of

serum IL-17A and IP-10 for evaluation of liver fibrosis progression in patients with HBV/HIV co-infection. *Georgian medical news*, (290), 73-77. *(Дисертанту належать узагальнення літературних джерел, підбір тематичних хворих, статистична обробка отриманих результатів, технічне оформлення роботи).*

5. Soni, S. C., Moroz, L. V., Havrylyuk, A. O., & Chichirelo-Konstantynovych, K. D. (2019). Morphological features of liver effect in patients with chronic hepatitis B with HIV-coinfection. *Journal of Education, Health and Sport*, *9*(6), 503-513. *(Дисертанту належать обстеження тематичних хворих, проведення біопсії печінки пацієнтам, узагальнення результатів, технічне оформлення роботи).*

SUMMARY

*Soni S. Ch***.** Clinical and epidemiological features and potential factors for determining the prognosis of chronic viral hepatitis B in HIV-infected individuals. - Qualified scientific work on the rights of manuscript.

The dissertation for the degree of candidate of medical sciences in the specialty 14.01.13 - infectious diseases. - National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ukraine, Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsya, 2019.

National Pirogov Memorial Medical University, MHP of Ukraine, Vinnytsya, 2019.

The dissertation thesis is devoted to the study of clinical and epidemiological features and potential factors for determining the prognosis of chronic hepatitis B (HBV) in human immunodeficiency virus (HIV)-infected individuals based on the determination of the role of interleukin-17A (IL-17A) and the chemokine IP-10 (IP-10) in the serum for its course.

Scientific data on epidemiological aspects of HBV prevalence and HIV among Zambian residents, sex and age-related morbidity are completed. In terms of territorial prevalence, the highest proportion of donors infected with HBV-virus,

hepatits C virus (HCV) and HIV were identified in the Limulunga region ($p < 0.05$). The prevalence of HBV infection in this region was 7.06%, which was significantly higher than the prevalence of HCV infection (1.72%) and HBV / HIV coinfection (0.23%) ($p = 0.001$). A similar pattern was observed in other provinces. It has been shown that the number of infected donors has decreased by 1.65 times over the past five years in Western Zambia province. Among male donors, the highest percentage of infection occurred with HBV infection (8.86%), ($p < 0.005$). There was a significantly higher in 1.11 times percent of HBV-infected ones compared to HIV-infected men. Among female donors, the number of HBV-infected was 4.22 times higher than HCV-infected. Among HBV-infected donors, more than half (59.3%) were found to be over the age of 39, 2.08 times more than HIV-infected.

The main clinical features of the course of HBV on the base of HIV infection are identified, they are manifested by prevalence among patients with co-infection with HBV / HIV in 1,13-7,73 times more often by signs of hepatomegaly, splenomegaly, and astheno-vegetative, dyspeptic syndrome compared to monoinfected patients. Indicators of cytolysis syndrome (alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase) in patients with HBV on the background of HIV infection were 1.14 and 1.20 times higher, respectively, than in patients with mono-infection of HBV and proportionally dependend on the level of CD4. All indicators of cholestasis syndrome were elevated in the group of patients with HBV with HIV infection. The levels of total bilirubin and alkaline phosphatase in blood serum of patients with co-infection with HIV were 1.11 times higher than in patients with HBV, and direct and indirect bilirubin in the serum were 1.14 and 1.22 times, respectively. Significantly higher serum γGGT levels were also recorded ($p = 0.045$). Among the indicators of hepatocellular insufficiency there was an increase of 2.31 times the level of α-fetoprotein in the serum of patients with cholesterol, on the background of HIV infection, which indicated the possibility of rapid formation of not only cirrhosis, but also hepatocellular

carcinoma in this group. The results indicate a more severe course of HBV in patients with HIV coinfection.

Scientific novelty of the obtained results

Data on peculiarities of liver morphological changes in patients with HBV / HIV coinfection by immunohistochemical study of liver biopsy specimens are added. Pathogenic signs of HBV infection were detected in liver tissue in the form of "opaque-glassy" hepatocytes, which reflected the uneven content of glycogen and RNA in different liver cells, hydropic dystrophy of hepatocytes, and the presence of inflammatory cell lymphocyte and lymphatic cell lymphocyte. The presence of the latter in the final stages led to the formation of cirrhosis. The signs of hydropic dystrophy of hepatocytes were combined with small- and large-fatty dystrophy of hepatocytes, which indicated a deeper damage to the liver tissue during co-infection with HBV / HIV. Damage and destruction of hepatocytes were due to the action of immune mechanisms with the participation of T-lymphocytes, the products of cell disintegration, in turn, were captured by macrophages. Therefore, the cells of parenchyma necrosis, as a rule, contained lymphoid-macrophage infiltrate (necro-inflammatory activity). Immunohistochemical (IHC) pathomonomic sign of damage in our study was the IHC reaction with Hep Par 1 (Clone OCH1E5.2.10), manifested by cytoplasmic expression in the form of granules in the area of mitochondrial membranes. In the tissue of the liver at HBV on the background of HIV infection, activation of the reparative ductular reaction occurred, which subsequently led to the formation of new pseudoparticles and the development of cirrhosis.

Diagnostic levels of IL-17A and IP-10 in serum were determined in virtually healthy controls, patients with the main group with HBV and HIV compared with the group with comparison with HBV. Patients with co-infection with HBV / HIV and patients with mono-infection with HBV had an increase in serum IL-17A and IP-10 content of 6.43 and 4.14 and 8.35 and 5.59 times, respectively, compared with healthy subjects. At the same time, the content of these parameters in the

serum was significantly higher in patients with HBV on the background of HIV infection, IL-17A 1.55 times, and IP-10 - 1.49 times, respectively.

Significant increase in serum IL-17A and IP-10 was found, respectively, with an increase in inflammatory activity ($p < 0.05$). Thus, the level of IL-17A in the serum of patients with HBV with HIV infection with an average activity of the inflammatory process was 4.14 times higher compared with patients with low activity. Among patients with a high degree of activity of the inflammatory process, the content of this indicator was already 6.42 times higher.

According to our data, the growth of IL-17A correlated with an increase in the degree of liver fibrosis ($p < 0.05$; $r = 0.52$). In the group of patients with co-infection and fibrotic changes F1-F2, the content of IL-17A in the serum was 1.44 times higher than in the group of patients with mono-infection of HBV, in the presence of fibrosis F3-F4 the content of IL-17A in the serum of patients with HBV on the background of HIV infection was 1.63 times higher compared to mono-infection of HBV. We also found a strong correlation between serum IP-10 content and liver fibrosis ($p < 0.05$; $r = 0.60$).

High diagnostic information content of determination of IP-10 level in serum of HBV / HIV-coinfected patients for isolation of group of patients with severe fibrosis and cirrhosis (F3-F4) (sensitivity 97.1%; specificity 66.9%; AUC 0.821, $p = 0.001$). The risk of developing F3-F4 liver fibrosis has been demonstrated by increasing IL-17A content above 19.00 pg / ml (OR = 2,373; 95% CI 1.201 - 4.689) and IP-10 content above 400.00 pg / ml in (OR = 4,089; 95% CI 1,851 - 9,031).

The results of our studies statistically prove the feasibility of investigating and using IL-17A and IP-10 as markers of fibrotic changes in the liver that affect the disease progression to a greater extent in patients with HBV / HIV coinfection.

The practical significance of the obtained results

The conducted clinical studies allowed to obtain additional data on the clinical features of the course of HBV on the background of HIV infection by

determining the direct and indirect markers of fibrosis to establish different stages of liver fibrosis and to predict the course of the disease. The comparative characterization of the diagnostic information of different serological markers of fibrosis formation made it possible to refine and refine the existing diagnostic protocols for the determination and prognosis of liver fibrosis progression.

It is proposed to introduce the definition of IL-17A, IP-10 in the serum of patients with cholesterol on the background of HIV infection as markers of fibrosis in the clinical work of an infectious disease doctor, gastroenterologist, hepatologist.

The serum levels of IL-17A and IP-10 have been established to allow determination of the stages of fibrosis and the severity of HBV on the background of HIV infection with high sensitivity and specificity.

Key words: chronic hepatitis B, HIV infection, liver fibrosis, interleukin 17A, chemokine IP-10.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ ……..……..11
ВСТУП……12
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ……19
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ……...…….34
2.1. Клінічна та параклінічна характеристика хворих……..……34
2.2. Методи дослідження……...……...39
РОЗДІЛ 3. ПОШИРЕНІСТЬ HBV ІНФЕКЦІЇ СЕРЕД ДОНОРІВ ЗАХІДНОЇ ПРОВІНЦІЇ ЗАМБІЇ……...…….……..46
РОЗДІЛ 4. КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ХГВ У ВІЛ-ІНФІКОВАНИХ ХВОРИХ ЗАМБІЇ…….55
РОЗДІЛ 5. ОЦІНКА ВМІСТУ IL-17 ТА IP-10 В СИРОВАТЦІ КРОВІ ХВОРИХ НА КОІНФЕКЦІЮ В ЯКОСТІ ПРЕДИКТОРІВ ФОРМУВАННЯ ФІБРОЗУ ПЕЧІНКИ У ХВОРИХ НА КОІНФЕКЦІЮ HBV/HIV……..……..67
РОЗДІЛ 6. МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ У ХВОРИХ НА ХГВ З КОІНФЕКЦІЄЮ ВІЛ……...…….79
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ……..91
ВИСНОВКИ…….102
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ…….105
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ……...104
ДОДАТКИ……119

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АГ – антиген

АЛТ – аланінамінотрансфераза

анти-HIV – антитіла до віруса імунодефіцита людини

АСТ – аспартатамінотрансфераза

АТ – антитіло

ВІЛ – вірус імунодефіциту людини

ІГХ – імуногістохімія

ЛДГ – лактатдегідрогеназа

ЛФ – лужна фосфатаза

УЗД – ультразвукове дослідження

ХГВ – хронічний гепатит В

α-ФП – альфа-фетопротеїн

γГГТ – γ-глутамілтранспептидаза

AUC – площа під кривою

CD4 – лімфоцити, клітини-хелпери

CI – довірчий інтервал

HBsAg – австралійський антиген

HBV – інфекція, спричинена вірусом гепатиту В

HCV – інфекція, спричинена вірусом гепатиту С

HIV – інфекція, спричинена вірусом імунодефіциту людини

IL-17A – інтерлейкін 17А

IP-10 – хемокін IP-10

OR – співвідношення шансів

ROC – оперативна характеристична крива спостереження

ВСТУП

Актуальність проблеми. Наразі у світі проблема парентеральних вірусних гепатитів набуває все більшого значення внаслідок високої поширеності (приблизно 325 млн. людей у всьому світі живуть з хронічним вірусним гепатитом В (HBV) або С (HCV) [ВООЗ, 2015], обмеженого доступу до діагностично-лікувальних засобів [Глобальний звіт по гепатиту ВООЗ, 2017], що загрожує прогресуванням хронічних захворювань та раку печінки з летальними наслідками. Ось чому, боротьба з вірусними гепатитами зараз визнана головним завданням охорони здоров'я, що вимагає термінового реагування [М. Чан, генеральний директор ВООЗ, 2017]. У 2015 році вірусні гепатити стали причиною смерті для 1,34 мільйона осіб, що за масштабами кількісно співставляється зі смертністю від туберкульозу та ВІЛ-інфекції, і показник якої на відміну від них невпинно зростає. Особливого значення HBV-інфекція набула у Африканському регіоні, де станом на 2017 р. вона охоплює 6,1% інфікованого населення (60 млн. жителів), а в країнах суб-Сахарної Африки щорічно стає причиною смерті 136 тис. пацієнтів (10% смертності від гепатиту у світі. Крім того, вважається, що у 2015 р. лише 9% інфікованого населення було встановлено діагноз, і лише 7% хворих почали отримувати етіотропне лікування. Попри зростаючий показник смертності, впровадження обов′язкової 3-разової вакцинації щеплень згідно календаря (1980-2000рр.) дозволило знизити захворюваність серед вакцинованих дітей до 5-річного віку з 4,7% до 1,3%. В групі підвищенного ризику до хронічного HBV-гепатиту, на жаль, залишається когорта дорослого невакцинованого населення (на 2015 р. – близько 257 млн. осіб) при наявності обтяжуючих факторів, включаючи низьку санітарну культуру [M. Kibaya, 2015], незахищений секс [Mattews P., 2015; Mutagoma M., 2017], вживання наркотичних засобів ін′єкційним шляхом [Salpini R., 2016], недообстеженість донорів крові [Rajbhandari R., 2016] та трансплацентарна

передача вірусу від матері до плода [Mutagoma M. 2017]. Враховуючи спільні шляхи передачі, особливу складність становлять пацієнти з одночасним ко-інфікуванням HBV/HIV-інфекцій. Внаслідок складного каскаду патофізіологічних, біохімічних, патогістологічних реакцій на тлі вираженої імуносупресії ці дві інфекції комплексно та взаємообтяжливо впливають як на функціональний стан, так і на клітинну структуру печінки, що результує не лише у прогресуючу печінкову недостатність, а і в стрімку гепатоцелюлярну передову [1].

У наукових джерелах автори досить суперечливо пояснюють особливості впливу HBV/HIV-ко-інфікування на розвиток цитолітичного та мезенхімально-запального синдромів. Існують дослідження, що як підтверджують [Fuster F., 2016; Stokdale A., 2016], так і спростовують [Maponga T., 2018] залежність прогресування фіброзних змін печінки від стадії HIV-інфекції у HBV/HIV-хворих. Однак, у світі зараз активно розглядається роль прозапальних медіаторів у формуванні імунної відповіді на чужорідний антиген (в тому числі і при HBV/HIV-ко-інфікуванні), оскільки деякі з них асоціюються з хронічним запаленням та сприяють фіброгенезу [Yosio S., 2018]. Зокрема відомо, що Il-17A у своєму кількісному значенні позитивно корелює із швидкістю фіброзоутворення у моно-інфікованих HBV-пацієнтів [Wang J.,2016]. Статистично доказових результатів для HBV/HIV-пацієнтів не було виявлено, що пояснювалось втратою імунної толерантності [Cai B., 2016]. IP-10 при його вивченні показав себе як захисний інтерлейкін [Zhao K., 2017], кількість якого інгібується HIV-інфекцією, що сприяє канцерогенезу [Saudy N., 2015]. Тому комплексне дослідження реакції цитокінів IP-10, Il-17A у HBV/HIV-ко-інфікованих хворих, їх прогностичного впливу на морфо-функціональний стан печінки є актуальним, своєчасним та практично орієнтовним для розробки нового діагностично-лікувального підходу у таких пацієнтів.

Вище наведене і зумовило актуальність дослідження, його мету і завдання.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана згідно плану науково-дослідних робіт Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова і є фрагментом наукової роботи кафедри інфекційних хвороб "Вивчення взаємозв'язку вірусних, метаболічних та генетичних факторів з особливостями перебігу хронічних вірусних гепатитів В та С", № державної реєстрації – 0104U003552. Дисертант є співвиконавцем теми.

Мета дослідження: дослідити клініко-епідеміологічні особливості та потенційні чинники визначення прогнозу хронічного гепатиту В (ХГВ) у ВІЛ-інфікованих осіб на основі визначення ролі інтерлейкину-17А та химокіну IP-10 в сироватці крові на його перебіг.

Завдання дослідження:

1. Визначити поширеність HBV- інфекції серед донорів західної провінції Замбії.
2. Встановити клініко-лабораторні особливості перебігу ХГВ у ВІЛ-інфікованих пацієнтів Замбії в залежності від змін показників цитолізу, холестазу, печінково-клітинної недостатності, рівня CD4.
3. Оцінити ступінь морфологічних змін в печінці у хворих з ХГВ на тлі ВІЛ- інфекції.
4. Встановити діагностичну цінність визначення рівнів IL-17A, IP-10 в сироватці крові хворих з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції в залежності від рівня CD4, активності запального процесу та стадії фіброзу.
5. Оцінити рівні IL-17A та IP-10 в сироватці крові хворих з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції в якості предикторів формування фіброзу печінки.

Об'єкт дослідження – хронічний гепатит В на тлі ВІЛ-інфекції

Предмет дослідження - клініко-біохімічні показники, серологічні та вірусологічні тести, вміст IL-17A та хімокіну IP-10 в сироватці крові,

показники активності запального процесу та ступеню фіброзу печінки, морфологічні зміни в печінці у хворих на хронічний гепатит В на тлі ВІЛ-інфекції.

Методи дослідження: в роботі використані епідеміологічні, клінічні, біохімічні, серологічні, інструментальні, морфологічні методи дослідження. Статистична обробка отриманих результатів проводилась за допомогою пакету програм Statistica 8.0; IBM SPSS12 Statistic.

6. **Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше визначена поширеність HBV-інфекції у західній провінції Замбії. Встановлено, що західна провінція Замбії відноситься до регіонів з високим рівнем поширеності HBV-інфекції, інфікованість серед донорів складала 6,70 %. Серед обстежених донорів чоловічої статі з високим ступенем достовірності (p=0,002) переважали особи з наявністю маркерів HBV-інфекції. HBV-інфікованих донорів в віці старше 39 років було в 2,08 рази більше ніж серед HIV-інфікованих.

Вперше виявлені частота та клініко-біохімічні особливості ураження печінки у хворих на ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції у західній провінції Замбії. Доведено більш важкий перебіг захворювання у пацієнтів з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції в порівнянні з моноінфекцією ХГВ, що підтверджувалося виявленням ознак астено-вегетативного та диспептичного синдромів в 1,62-7,73 рази частіше, гепатомегалії в 1,13 рази, а спленомегалії в 1,46 рази. Рівні АЛТ та АСТ в сироватці крові коінфікованих також були в 1,14 та 1,20 рази вищими в порівнянні з моноінфікованими, а в групі пацієнтів з 2 клінічною стадією ВІЛ-інфекції рівні АЛТ та АСТ в сироватці крові були в 1,52 та 1,29 рази вищими, ніж у пацієнтів з менш вираженою імуносупресією.

Доповнені та уточнені морфологічні особливості ураження тканини печінки при конфекції ХГВ/ВІЛ за допомогою проведення імуногістохімічних досліджень гепатобіоптатів. Встановлено патогномонічною ознакою пошкодження тканини печінки була ІГХ-реакція з

HepPar1 з проявами цитоплазматичної експресії в вигляді гранул в зоні мітохондріальних мембран.

Вперше встановлено залежність підвищення рівнів IL-17A та IP-10 в сироватці крові хворих на ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції до збільшення активності запального процесу 1,21-1,38 та 1,13-1,17 рази, відповідно. та стадії фіброзу печінки в 1,63 та 1,50 рази.

Вперше доведена роль IL-17A та IP-10 в якості маркерів фібротичних змін в печінці, що впливають на процес прогресування захворювання в більшій мірі у пацієнтів з коінфекцією HBV/HIV. Встановлена висока діагностична інформативність визначення рівня IP-10 в сироватці крові хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ для виділення групи хворих з вираженим фіброзом та цирозом печінки (F3-F4) (чутливість 97,1 %, специфічність 66,9 %. AUC, p=0,001).

Практичне значення отриманих результатів.

Проведені клініко-епідеміологічні та лабораторні дослідження дозволили отримати дані щодо поширеності HBV-інфекції у Західній провінції Замбії та особливостей перебігу ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції у мешканців даного регіону Африки, що допоможе покращити виявлення захворювання та прискорити початок специфічної противірусної терапії.

Визначено ступінь фібротичних змін в тканині печінки у хворих на ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції .

Запропоновано визначення рівнів IL-17A та IP-10 в сироватці крові в якості предикторів формування фіброзу печінки у хворих на коінфекцію HBV/HIV.

Впровадження результатів дослідження в практику. Результати дослідження впроваджено в навчальний процес кафедри інфекційних хвороб з курсом епідеміології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України, а також в лікувальну роботу інфекційного відділення КНП «Вінницька міська клінічна лікарня №1», Хмельницької

міської інфекційної лікарні, гастроентерологічне відділення Lewanika General Hospital (Монгу, Замбія).

Особистий внесок дисертанта.

Дисертаційна робота виконана на кафедрі інфекційних хвороб з курсом епідеміології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова. Під час виконання роботи дисертантом самостійно проведений патентно-інформаційний пошук, зібрані та проаналізовані літературні джерела з проблеми, що досліджувалась. Дисертантом також була розроблена реєстраційна карта хворого з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції гепатологічного відділення Lewanika General Hospital (Замбія). Автором проведений аналіз, систематизація, інтерпретація отриманих результатів дослідження та їх статистична обробка, самостійно написані всі розділи дисертації, сформульовані висновки і практичні рекомендації.

Дисертант в повністю оволодів всіма методиками, що застосовувалися під час виконання дисертації, самостійно проводив пункційну біопсію печінки хворим ,які були включені в дослідження. Морфологічне дослідження біоптатів печінки проводилось на кафедрі патологічної анатомії ВНМУ ім. М.І. Пирогова (зав.каф. патологічної анатомії проф. Гаврилюк А.А.). Визначення рівнів проводилось автором на кафедрі загальної та біологічної хімії (зав.каф. проф. Заічко Н.В.). Статистична обробка отриманих результатів досліджень проводилась дисертантом на кафедрі інфекційних хвороб з курсом епідеміології та кафедрі соціальної медицини та організації охорони здоров’я ВНМУ ім. М.І. Пирогова під керівництвом професора О.М. Очередька.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації висвітлені на: Всеукраїнській науково-практичній конференції інфекціоністів «Інфекційні хвороби і біобезпека» (м. Хмельницький, 2019), XVI Науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку - 2019», (м. Вінниця, 2019), Всеукраїнській науково-

практичній конференції інфекціоністів і пленуму ГО «Всеукраїнська асоціація інфекціоністів» «Сучасні діагностичні, лікувальні і профілактичні технології у практиці інфекціоніста» (м. Чернівці, 2018), XIII міжрегіональній науково-практичній конференції «Загальна практика – сімейна медицина: сучасні стандарти діагностики, лікування та профілактики» (Вінниця, 2018); XIV науково-практичному симпозіумі «Сучасна гастроентерологія: актуальні питання діагностики, лікування та профілактики» (Вінниця, 2019); засіданні Вінницької школи лікарів загальної практики – сімейної медицини «Актуальні питання загальної практики – сімейної медицини» (Вінниця, 2019).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 5 наукових робіт у співавторстві, з них 3 в фахових журналах, затверджених ВАК України та 2 закордонні публікації (одна у журналі, що індексується науко-метричною базою SCOPUS), а також 4 в збірниках матеріалів науково-практичних конференцій та з'їздів.

Об'єм та структура дисертації. Роботу виконано за загальноприйнятою формою на 129 сторінках машинописного тексту. Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, розділу "Матеріали та методи", 4-х розділів власних досліджень, аналізу та обговорень отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій та списку використаних літературних джерел. Список використаних джерел викладено на 12 сторінках та включає 4 джерела кирилицею та 136 джерел латиницею. Дисертація ілюстрована 14 таблицями та 36 рисунками.

РОЗДІЛ 1
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

Хронічний вірусний гепатит В (HBV) залишається однією з основних проблем сучасної гепатології. Поширеність HBV - інфекції у світі становить 350–400 млн осіб (за даними ВООЗ, 1,49 на 100 тис. населення). Епідемія гепатиту В в основному торкається Африканського регіону та країн Західної частини Тихого океану. За оціночними даними в країнах Субсахарної Африки рівень інфікування населення вірусом гепатиту В становить10,3%. [131]. Якщо говорити про регіони з низькою ендемічністю, а саме: Західну Європу, Північну Америку, Австралію; то ≤2% людей мають хронічну інфекцію ВГВ.

У світі ризик інфікування ВГВ протягом життя коливається і може бути від менше ніж у 20% серед населення з низьким рівнем поширення цієї інфекції, аж до 80% у високоендемічних регіонах. Фіброзоутворення з формуванням цирозу печінки та розвиток гепатоцелюлярної карциноми є основними причинами смерті при ХГВ. У 2015 році в зв'язку з цими ускладненнями було зафіксовано 887000 летальних випадків серед HBV-інфікованих пацієнтів [132].

За даними ВООЗ ВІЛ-інфекцією уражені понад 36,9 млн осіб на планеті, тоді як в Україні зареєстровано понад 200 тис ВІЛ-інфікованих та хворих на СНІД. 17,1 млн ВІЛ позитивних осіб у світі не знають про свій діагноз [133]. Це є провідною проблемою охорони здоров'я населення багатьох країн світу. Складність структури епідемічного процесу ВІЛ-інфекції, відсутність специфічної профілактики та ефективного етіотропного лікування, поліфакторність його розвитку, принципово відрізняють цю інфекцію від інших епідемій.

У зв'язку зі спільністю шляхів передачі (гемоконтактний, вертикальний, статевий) гепатиту В та ВІЛ, з домінуванням статевого шляху,

дедалі актуальнішим стає питання ко-інфекції ВІЛ/хронічний гепатит В (ВІЛ/ХГВ) [133].

Більше ніж у 1% осіб на планеті з ВГВ мають ВІЛ інфекцію. І навпаки, значно вищі показники поширення HBV інфекції серед ВІЛ-інфікованих, близько 70 % осіб є носіями маркерів, що свідчать про поточну або перенесену HBV-інфекцію.[10]

У світі щорічно від 8 до 35 млн людей інфікуються вірусними гепатитами з парентеральним механізмом передачі, ВІЛ інфекцією –заражаються від 4,3 млн. до 6,6 млн осіб, з них щорічно помирають близько 13 млн мешканців планети, що страждали цими трьома інфекціями (гепатити В і С, ВІЛ-інфекція).[131-133]

У світі HBV-інфекція є причиною близько 370 млн випадків хронічного гепатиту В, в результаті HCV-інфекції ми маємо біля130 млн пацієнтів з ХГС, яких в рази буде менше внаслідок ефективного противірусного лікування препаратами прямої противірусної дії, та біля 40 млн хворих з невиліковною ВІЛ-інфекцією.[72-75].

Наприклад, в країнах Африки, що знаходяться південніше від Сахари, гетеросексуальний шлях передачі є домінантним. Саме у цих країнах реєструється більше 65% ВІЛ-інфікованих осіб з усього світу та висока поширеність ХГВ. Найчастіше у цих країнах відбувається перинатальне інфікування та високий рівень зараження у ранньому дитинстві. Як відомо, біля 95% випадків інфікування дітей HBV-інфекцією призводить до хронічного гепатиту В, що є наслідком високої поширеності ХГВ серед загальної популяції підлітків та дорослих, та в подальшому висока ймовірність їх інфікування HIV-інфекцією статевим шляхом.[6]

Кількість ВІЛ-інфікованих людей у світі починає зростати, і в свою чергу, завдяки позитивному ефекту антиретровірусної терапії, що дала змогу продовжити тривалість життя усім інфікованим. На жаль у країнах Африки на південь від Сахари, в регіонах з найбільшою поширеністю СНІДу, рівень

поширеності ВІЛ інфекції досягнув свого піку, та не змінюється у більшості країн роками. У дослідженнях були виявлені відмінності по поширенню гепатиту В серед хворих на ВІЛ інфекцію та у донорів крові в Нігерії та країнах Західної Європи і Північної Америки. У Нігерії HBsAg виявляли в 25,9 % випадків серед ВІЛ-інфікованих, та у 14,3% серед донорів крові.[7]

ХГВ діагностується у країнах Західної Європи і Північної Америки у 7,6% хворих на ВІЛ-інфекцію, тоді як серед популяції в цілому – менше, ніж у 2%.[8].

За даними ВООЗ та Об'єднаної програми Організації Об'єднаних Націй з ВІЛ/СНІДу (ЮНЕЙДС) сучасна ситуація щодо ВІЛ-інфекції у світі дуже важка та за умов відсутності об'єднання та розробки негайних ефективних стратегій у її подолання, це зможе призвести до пандемії з катастрофічними демографічними наслідками для усіх країн світу. За рахунок збільшення частки ВІЛ-інфікованих жінок та домінування статевого шляху передачі, очікується подальше зростання ВІЛ-інфікованих дітей, що потребує в подальшому удосконалити заходи профілактики передачі ВІЛ інфекції від матері до дитини.

У звіті ВООЗ 2017 року подані дані, щодо зниження смертностей від ВІЛ інфекції (з 1,46 млн. до 1,06 млн. смертей протягом 2000-2015 років), туберкульозу та малярії. Зовсім інша епідеміологічна ситуація щодо вірусних гепатитів, ось тут, навпаки, кількість смертей зросла з 1,10 млн. смертей у 2000 році до 1,34 млн. смертей у 2015 році (збільшення на 22%).[9]

Незважаючи на заходи специфічної профілактики для ВГВ, широке впровадження вакцинації розпочалось тільки з 1990-х та 2000-х років. Тому, всі хто народився раніше, не були вакциновані. У країнах Африки інфіковані діти на теперішній час можуть досягати підліткового віку.[10]

Якщо говорити про ко-інфекцію ВІЛ/ХГВ, вчені виявили, що вірус імунодефіциту людини має негативний вплив на перебіг хронічного гепатиту В. По перше, у цих хворих більш важкий перебіг вірусного гепатиту. По

друге значно нижча частота спонтанного кліренсу HBeAg/HBsAg та нижча частота сероконверсії по анти-HBe/анти-HBs антитіл. При моноінфекції хворі з ХГВ мають значно нижчий рівень рівень HBsAg , порівняно з пацієнтами з ВІЛ/ВГВ ко-інфекцією.[12]

По третє реєструється значно вища реплікація вірусу гепатиту В. Потрібно враховувати, що гепатотоксичність антиретровірусних препаратів може також ускладнювати лікування ВІЛ-інфекції. По четверте, ко-інфекція ХГВ з ВІЛ погіршує перебіг гепатиту В за гістологічними даними , пришвидшує процес фіброзоутворення. Ризик розвитку цирозу печінки у пацієнтів з ко-інфекцією вище в 4,2 рази. Також можливий ранній розвиток гепатоцелюлярної карциноми на тлі цирозу.

Також пацієнти з термінальними стадіями ВІЛ інфекції (з числом CD4 нижче 200 клітин/л або з клінічними проявами СНІДу) переважали саме в групі пацієнтів з HIV/HBV ко-інфекцією і становили 64,3%, яких було в 1,62 рази більше, ніж серед пацієнтів з HIV-моноінфекцією-39,6%, та більше ніж серед групи пацієнтів з HIV/HCV ко-інфекцією – 41,5%. У цьому дослідженні було продемонстровано, що є певні клінічні та імунологічні особливості серед пацієнтів з HIV/HBV, що значно ускладнюють перебіг захворювання у порівнянні з HIV/HCV ко-інфекцією та HIV-моноінфекцією, та продемонстрований негативний вплив хронічного гепатиту В на перебіг ВІЛ-інфекції.[13]

У свою чергу наявність ВІЛ-захворювання підвищує ймовірність хронізації та реактивації HBV-інфекції, та ризик розвитку цирозу печінки та гепатоцелюлярної карциноми.[14]

Досить часто можлива активація гепатиту В на фоні стану важкої імуносупресії. Рівень смертності від печінкової недостатності у хворих з ко-інфекцію в рази вищий, ніж серед пацієнтів з HBV-моноінфекцією. Ко-інфіковані пацієнти мають підвищений ризик смерті, пов'язаної з патологією печінки, особливо при низькому рівні CD4 клітин. Доведено, що при малому

числі CD4 клітин не тільки підвищується ризик смерті, від захворюваннь печінки, але і значно зростає гепатотоксичність, на тлі призначення антиретровірусної терапії (АРТ), і після одночасного зупинення АРТ та лікування гепатиту В.[15]

Саме тому, визначення нових генетичних предикторів швидкості фіброзоутворення є надважливим питанням для новітніх досліджень в галузі гепатології.

На формування та темпи прогресування фібротичних змін в печінці при HBV-інфекції доведено вплив багатьох факторів як вірусу так і господаря, наявність супутньої патології.

До факторів господаря, що впливають на прогресію фіброзу печінки при ХГВ, ми можемо віднести: чоловічу стать, старший вік, наявність метаболічного синдрому, зловживання алкоголем, ко-інфекції з HIV, HDV, HCV.[16,17,92,93]

За даними китайських вчених, ймовірність летального випадку від ускладнень хронічного гепатиту В складає 40-50% серед чоловіків та 15% серед жінок [18,91].

До факторів вірусу, щодо ризику прогресії фіброзу при ВГВ ми відносимо високе вірусне навантаження (кількість ДНК ВГВ), наявність HBeAg. Велике значення має генотип вірусу гепатиту В: C>B>A/D.

При ко-інфекції ВІЛ/ХГВ саме тривалість ВІЛ інфекції була більш сильно асоційована з фіброзом печінки, ніж вік хворих та тривалість ХГВ.[89]

В дослідженнях Iloeje U., Yang H. та інших було продемонстровано, що ризик розвитку цирозу печінки у пацієнтів з вірусним навантаженням ДНК ВГВ>10^4 копій/мл та вірусним навантаженням ДНК ВГВ>10^6 копій/мл становив 2,3 та 9,3 порівняно з пацієнтами з низьким вірусним навантаженням <10^4 копій/мл. [19]

Серед пацієнтів з цирозом печінки HBV-етіології, стійка реплікативна активність вірусу пов’язана з високим ризиком смерті хворого, коли навпаки нормалізація біохімічних показників, кліренс HBeAg, ДНК HBV в крові після постановки діагнозу цирозу печінки - в рази збільшує виживання таких пацієнтів.[20]

Декомпенсований цироз печінки (ЦП) – одна з основних причин госпіталізації та смерті у хворих з ко-інфекцією ХГВ/ВІЛ. При проведенні дослідження REVEAL було продемонстровано, що існує пряма залежність між рівнем вірусного навантаження HBV та розвитку ЦП і гепатоцелюлярної карциноми (ГЦК).[21]

У великій кількості публікацій було встановлено, що хронізація процесу при гострому гепатиті В стається лише у 4-7% дорослих, проти 23% серед пацієнтів з ко-інфекцією з ВІЛ, що перевищує більше ніж у 5 разів. [22]

Враховуючи ці дані, рекомендовано у всіх осіб з недавньо діагностованою ВІЛ-інфекцією провести скринінг на HBsAg і анти-HBs, щоб визначити тих, у кого є ХГВ і неімунним пацієнтам (маркери до гепатиту В негативні, анти-HBs - негативний) провести щеплення проти гепатиту В. Це найкращий дієвий метод профілактики, що обов’язково має рекомендуватись усім ВІЛ-інфікованим хворим. Але на теперішній час ми маємо сумну статистику, тільки 9-13% ВІЛ позитивних хворих отримала повний курс вакцинації проти гепатиту В.[23]

Серед вакцинованих, 87% ВІЛ позитивних осіб отримали поствакцинальний імунітет (поява анти-HBs), що мали число CD4+-лімфоцитів - 500 клітин/мм3, а при кількості менше 350 клітин/мм3 – тільки у 26 %. Вчені довели, що при введені додаткової дози вакцини пацієнтам з кількостю CD4+-лімфоцитів менше 350 клітин/мм3, у 2,46 рази це збільшувало кількість тих, хто відповів - до 64 % [24]

Відомо, що у країнах Африки ВІЛ інфекція, ВГС та ВГВ ендемічні, та рівень поширення цих інфекцій є значно вищим. 63% осіб з усіх ВІЛ

інфікованих світу, проживають в Африці, а в країнах, що розташовані на півдні від Сахари - зафіксовано більше ніж 2,8 млн нових випадків інфікування ВІЛ-інфекцією тільки протягом 2018 року.[25] В країнах субсахарної Африки основною ко-інфекцією у хворих на ХГВ є ВІЛ.[26].

Імунний гомеостаз людини, на який можуть впливати безліч факторів, а саме різноманітні вірусні інфекції, наприклад ХГВ та ВІЛ інфекція, регулюється багатогранними механізмами, що потребують подальшого, більш глибокого вивчення. Ці віруси мають обійти імунну систему, шляхом: пригнічення продукції інтерферону, регулювання апоптозу, корегування функцій МНС класу I/II, та через них впливати на цитотоксичні відповіді лімфоцитів і природних кілерів, шляхом обмеження продукції/функції певних цитокінів або хемокінів, щоб вижити в організмі людини та персистувати. Для довготривалого перебування мікроорганізмів в організмі людини, необхідно забезпечити цей імунний гомеостаз, забезпечити знижену продукцію літичних генів, інгібувати апоптоз та знизити запальну відповідь. За рахунок внутрішньоклітинної персистенції, вони мають змогу впливати на ключові процеси, а саме регулювати вірусну транскрипцію та геномну реплікацію. Саме завдяки тропізму до певних клітин та здатність регулювати їх реплікацію в клітинах-мішенях, HBV та HIV віруси можуть викликати хронічну інфекцію та успішно виживати in vivo. При високому вірусному навантаженні, вірус може уникнути імунної відповіді та призвести до загибелі пацієнта або розвитку хвороби. Противірусне лікування знижує кількість вірусу, затримує прогресію хвороби та може призвести до його кліренсу з організму людини. У свою чергу, воно може спровокувати мутацію вірусу та подальшу резистентність до терапії. При підтримці імунного гомеостазу, коли імунна система бореться з вірусом, у пацієнта може бути безсимптомна персистуюча інфекція. При сильній імунній відповіді, інфекція зникає чи стає латентною. При хронічній ВІЛ інфекції, існує безліч ланок ухилення від імунної відповіді хазяїна, окрім базової

інтеграції генома віруса в клітини-мішені. Іде уникнення відповіді антитіл завдяки зміни або блокування імунодомінантних епітопів у глікопротеїнах вірусної оболонки. Навіть при потужній антиретровірусній терапії ВІЛ перебуває латентно в Т-клітинах пам'яті або мієлоїдних клітинах. Такі молекулярні механізми, як відсутність в сплячих CD4+ Т-клітинах інгібування ядерних форм ключових факторів транскрипції в організмі людини, наявність транскрипційних репресорів, блокування сплайсингу мРНК та недостатня активність Tat впливають на латентний перебіг ВІЛ інфекції у комплексі з факторами господаря [70,71].

В роботах останніх років встановлено , що у хворих з ко-інфекцією ХГВ/ВІЛ прогресування фібротичних змін в печінці відбувається в пять разів швидше, ніж при моноінфекції. Процес регуляції фіброгенезу при HBV індукованому фіброзі печінки вивчений недостатньо.

Запалення, фіброз, гепатоцелюлярні некрози та порушення регенерації гепатоцитів є взаємопов’язаними процесами, при порушенні яких відбувається прогресування ЦП. Дуже важливу роль у формуванні некрозів гепатоцитів відіграють саме імунологічні порушення, що обумовлені порушенням функції купферовських клітин, що синтезують такі прозапальні цитокіни, як фактор некрозу пухлин-α, IL-1, IL-6 та інші. Велике значення в патогенезі цирозу печінки також відіграє холестаз, та як наслідок, надлишкове всмоктування літохолевої кислоти та ураження холангіоцитів токсичними жовчними кислотами. Результатом некрозапальних процесів є формування септ. За рахунок некрозів в гепатоцитах, активності цитокінів, ацетальдигіду (продукту метаболізму алкоголя), надлишкового вмісту заліза в тканині печінки, компонентів перикисного окислення ліпідів - відбувається деградація внутрішньоклітинного матриксу простору Діссе та активація клітин Ito, зникнення краплин жиру з цитоплазми, поява білка гладкої мускулатури – α-актину, їх проліферація з збільшенням щільності рецепторів до профіброгенних цитокінів. При надлишковій секреції тканинних

інгібіторів металопротеїназ, і як наслідок порушення матриксу в просторі Діссе та відкладання колагену I, III та V типів з формуванням фібронектину та фібрил. Ці всі процеси призводять до «колагенизації синусоїдів», порушення обміну між гепатоцитами та кров'ю з формуванням портальної гіпертензії.[27]

Велике значення в прогресуванні фіброзу печінки має збільшення кількості екзоцеллюлярного матриксу, зміна його складу, стимуляція продукції матриксу міофібробластами та портальними чи перибіліарними фібробластами, що знаходяться в субендотеліальному просторі Діссе.[27]

Зірчасті клітини, що відносяться до дифузної системи стеллатних клітини організму людини та є перецитами печінки, які мають дендрити, також відіграють важливу роль. При загибелі клітин печінки, відбувається їх активація та трансформація зірчастих клітин в міофібробласти, збільшення експресіїї та продукції ними екстрацелюлярного матриксу та його відкладення - фіброз.[27]

В цьому процесі також приймають участь фіброцити, похідні кіскового мозку та похідні циркулюючих моноцитів під дією TGF-β ураженої печінки - фібробласти.[27]

В екстрацелюлярному матриксі вони продукують підвищені кількості компонентів позаклітинного матриксу, таких як колаген типу I і фібротнектин. Активовані зірчасті клітини також виділяють матриксні металопротеїнази (MMPs), а також тканинний інгібітор матричної металопротеїнази (TIMP)[28]. Все в комплексі призводить до накопичення колагену типу I в інтерстиціальному просторі печінки і фіброзоутворення.

Цитокіни, що продукуються імунними клітинами, також можуть ініціювати активацію зірчастих клітин. Необхідно дослідити, чи може протизапальний цитокін IL-17Авпливати на активацію зірчастих клітин та індикувати фіброгенез у хворих з ХГВ/ВІЛ ко-інфекцією.

Як вже було сказано, фіброз у ВІЛ-інфікованих осіб з хронічним гепатитом В, прогресує значно швидше, і ця прогресія корелює зі зниженням кількості CD4 клітин, що може свідчити про те, що CD4 Т-клітини і цитокіни, які вони продукують, можуть регулювати активацію зірчастих клітин. Дійсно, Th1 цитокіни, такі як IFN-g, мають антифібротичну дію, тоді як цитокіни Th2 IL-4 та IL-13 призводять до безпосередньої активації зірчастих клітин та посилення фіброзу, шляхом індукції макрофагами TGF-b і секреції фактора росту тромбоцитів (PDGF) [29,30,31].

Крім того, через секрецію IL-10 може бути індуковане старіння зірчастих клітині, отже, мати також антифібротичний вплив[32,33,34]. Але, нажаль вплив інших популяцій клітин CD4 Th недостатньо вивчений.

Th17 клітини, що секретують запальні цитокіни, такі як IL-17A, IL-17F і TNF-a, а також протизапальний цитокін IL-22, є субпопуляцію CD4 Th клітин та мають важливе значення в захисті від вірусних, бактеріальних та грибкових патогенів, відіграють велику роль у формуванні імунітету слизової оболонки. [35,36] Продукція Th17 цитокінами IL-17 та IL-22 переважно відбувається в тканині печінки, порівняно з периферичною кров'ю.[37,38]

З шести членів сімейства цитокінів інтерлейкіну 17 (IL-17), що включає: IL-17A , IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E і IL-17F, найкраще вивчена біологічна функція та регуляція двох з них: IL-17A і IL-17F.[39]

В експерементальних дослідженнях був виявлений зв'язок IL-17B, IL-17C та IL-17D цитокінів з стимулюванням продукції прозапальних цитокінів, але їх біологічна функція в значній мірі не відома.[40,41]

Першочергово повідомлялось, що: IL-17A переважно експресується активованим кластером диференціювання CD4+ Т-клітин. В залежності від екзогенного цитокінового середовища ці клітини можуть дифференціюватися в Th1 або Th2 шляхи. IL-12 веде до Th1 виду, а IL-4 до Th2 відповідно.[42] Більш ранні дослідження не класифікували IL-17A-продукуючі CD4 + Т-клітини ні в Th1, ні в Th2 види, хоча окремі шляхи виділяють різні цитокіни,

експресують специфічні фактори транскрипції і є посередниками специфічних імунних відповідей. [43,44,45]

В нещодавніх дослідженнях був показаний зв'язок між клітинами, що продукує IL-17 з прогресуванням фіброзу печінки при алкогольному гепатиті та вірусному гепатиті В (HBV) [46,47]. Впливаючи на зірчасті клітини та гепатоцити, IL-17A збільшує секрецію хемокінів, які включають IL-8 та білок регуляції зросту, що є важливими для набору профібротичних макрофагів, моноцитів і нейтрофілів [48] Також за рахунок активації рецепторного комплексу IL-17RA / IL-17RC, сигнали індуковані IL-17A в різних видах клітин, включаючи зірчасті клітини, призводять до стимуляції внутрішньоклітинних факторів NF-kB, JNK, MAPK і STAT-3, які всі пов'язані прогресуванням фіброзу печінки [49,50,51.52,53]

При хронічному гепатиті В серед пацієнтів, у яких було збільшення клітин, що продукують IL-17 в тканині печінки та периферичних Th17 клітин, спостерігались вищі рівні некрозапальної активності, порівняно з контрольною групою.[54] Також, впливаючи на макрофаги, IL-17A, активуючи їх, посилює прогресію фіброзу печінки, шляхом збільшенням продукції профібротичних цитокінів, таких як IL-6, TNF-a, TGFb, and PDGF [55,56]. В експерементальних дослідженнях in vivo на мишах було продемонстровано, що специфічне виснаження IL-17RA на макрофагах призводило до зменшення фіброзу печінки. [57]

Парадоксальним є те, що IL-17 може впливати як на процес ушкодження печінки так і на кліренс вірусу після HBV інфекції.

Отже дуже великий вплив на фіброгенез мають генетичні фактори та вплив факторів навколишнього середовища.

Незважаючи на те, що багато повідомлень про механізми фіброзу вказують на зв'язок між прозапальними медіаторами, такими як IL-17, і пошкодженням печінки та фіброзом, в одній роботі було виявлено зворотню

кореляцію між показниками IL-17 та APII у хворих на ВІЛ-інфекцію. Роботи по впливу хемокіну IP-10 на процеси фіброзоутворення взагалі відсутні. [59]

IP-10 або CXCL- це 10 кДа білок, що індукований гама-інтерфероном та ліпополісахаридами, який продукується в різних клітинах, в тому числі і гепатоцитами. Він відноситься до супер-родини C-X-C хемокінів. На відміну, від інших хемокінів, не має хемотаксичної активності щодо нейтрофілів.

Не дивлячись на те, що IP-10 вперше був клонований у 1985 році, його біологічне значення ще до цього часу не з'ясовано повністю та потребує подальшого вивчення. Це плейотропна молекула, що націлена на активацію Т-клітин, NK-клітини та моноцитів, інгібує утворення колоній кісткового мозку та ангіогенез. [60, 61]. CXCL також може стимулювати міграцію NK- и Т-клітин, регулювати їх дозрівання та регулювати експресію молекул адгезії, використовуючи свій CXCR3 рецептор.

IP-10 приймає участь в прогресуванні ВІЛ інфекції [64, 65].

Перебіг ВІЛ інфекції досить сильно пов'язаний з активністю імунної системи та її вплив на запальні процеси. На теперішній час рутино не використовують індивідуальний детальний цитометричний аналіз біомаркерів запалення. За результатами іноземних досліджень відомо, що високі рівні таких коагуляційних біомаркерів, та біомаркерів запалення, як: IL-6 та D димери, високо чутливий С-реактивний протеїн (hsCRP) пов'язані з імунологічною поразкою, вираженими клінічними проявами захворювання, СНІДом, та летальністю [95, 96]. Рівні TNFa, IP10, sCD14 та MCP1 були по різному повязані з вірусною реплікацією, рівнем CD4 клітин, атеросклерозом, смертністю та когнітивними порушеннями [97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105].

У великому когортному дослідженні Nicolas Noel, Faroudy Boufassa, та інших при дослідженні біомаркерів запалення, вони визначили високі рівні IP10, TNFa and sCD14 серед ВІЛ інфікованих. Результатом цього хронічного запалення може бути абнормальна активація моноцитів та дизрегуляція

IFNa/g шляхів, спричинена IP10. Саме моніторинг IP10, CD4 клітин та вірусного навантаження можуть бути прогностичними факторами прогресування захворювання [106].

На жаль дані щодо впливу цих маркера на прогресію фіброзу у хворих з ко-інфекцією ВІЛ/ХГВ відсутні та потребують подальшого поглибленого вивчення.

Як було сказано, ко-інфекція HIV/HBV значно пришвидшує ураження печінки і призводить до ускладнень.[121,122,123,124] Деякі вчені досліджували саме ступень ураження печінки у цих пацієнтів, та порівнювали рівень фіброзу серед хворих з моноінфекцією - хронічним гепатитом В, щоб визначити саме вплив ВІЛ на ураження печінки. Ці дослідження досить важливі, особливо в країнах Субсахарної Африки. Для діагностики фіброзу печінки використовували шкали APRI та FIB-4, як доступні не інвазивні методи діагностики фіброзу для країн з низьким та середнім рівнем доходу, рекомендовані ВООЗ. [107,112,113]. У дослідженні Claudia Hawkins та співавторів була обстежена група людей з Танзанії, з HIV та HBV моноінфекціями та HIV/HBV- інфіковані дорослі, у яких визначали ступінь фіброзу за шкалами APRI та FIB-4. [114,115,107] Було доведено, що пацієнти з HIV/HBV коінфекцією мали значно більший ризик прогресії фіброзу, ніж пацієнти з моноінфекцією [107,108,109,110].

Якщо при HBV моноінфекції відбувається імунна толерантність в тканині печінки (саме в імунно-толерантну фазу), то при ко-інфекції з ВІЛ - відбувається сильне виснаження клітин лімфоїдної тканини кишківника (переважно Т-лімфоцити пам’яті), що пов’язано з епітеліальним ушкодженням, і як результат - вихід мікробних продуктів у кровообіг [116]. У пацієнтів з ВІЛ-інфекцію реєструються підвищені рівні мікробних продуктів, порівняно з ВІЛ-негативними пацієнтами. [117] Саме ці мікробні продукти ведуть до активації імунної системи та асоційовані з печінковим фіброзом. [118] В гепатоцитах та клітинах Купфера ЛПС зв’язуються з TLR-

4, та сприяють секреції прозапальних і фіброгенних цитокінівт [125,126,127,128]. Такі прозапальні цитокіни, як IL-1β, IL-6 та IFN-γ, були пов'язані з хронічним запаленням в тканині печінки, та можуть відігравати велике значення у взаємозв'язку між запаленням та гепатокарциногенезом [129].

При впливі на ЛПС відбувається збільшення експресії цих цитокінів, тоді як секреція протизапальних захисних цитокінів, таких як IL-10, знижується. Tongai Gibson Maponga та співавтори досліджували зв'язок між ВІЛ-індукованим порушенням імунної системи та розвитком фіброзу печінки серед пацієнтів з Південної Африки, що мали ко-інфекцію з ВГВ або без, з гіпотезою, що серед пацієнтів із ВГВ/ВІЛ-інфекцією ВІЛ сприяє розвитку фіброзу печінки через активацію імунної системи у відповідь на вихід мікробіологічних продуктів кишечнику в системний кровообіг.[130] Було відмічено, що коінфекція з ВІЛ негативно впливає на природній перебіг ВГВ. Не зважаючи на проведення антиретровірусної терапії, серед пацієнтів, що інфіковані ВІЛ-ВГВ кількість CD4 клітин була нижча, порівняно з тими, що інфікувались лише ВІЛ. Так само, частка пацієнтів з вірусним навантаженням ВІЛ у плазмі крові>1000 копій/мл також була вищою серед групи осіб з ко-інфекцією (17%) порівняно з тими, що мали тільки ВІЛ (9%).[130]

Незважаючи на ефективну антиретровірусну терапію, низьке співвідношення CD4/CD8 клітин було пов'язано з імунним старінням, тривалою дизрегуляцією імунної системи та прогнозувало захворюваність та смертність. [131] За результатами фіброеластометрії, значно більша частка пацієнтів з вираженим фіброзом була серед пацієнтів з коінфекцією ВІЛ/ВГВ, порівняно з групою хворих з ВІЛ [132,133,134].

Підвищені рівні IL-17, IL-9 та основного фіброгенного фактору росту фібробластів в плазмі крові пацієнтів з ВГВ-моноінфекцією можуть бути

асоційовані з впливом цих маркерів на прогресію фіброзу печінки.[137,138,139,140].

У групи пацієнтів з ко-інфекцією рівні IP-10 були значно вище, ніж серед групи осіб з моно-інфекцією, що може бути індикатором тривалої активації імунної системи із-за вірусної реплікації та мікробної транслокації в кишківнику у ВІЛ/ВГВ інфікованих. [130,141]. Ці дані суперечливі та потребують більш детального подальшого дослідження.

На формування та темпи прогресування фібротичних змін в печінці при HBV/HIV-інфекції доведено вплив багатьох факторів як вірусу так і господаря, наявність супутньої патології. Процес регуляції фіброгенезу при HBV/HIV індукованому фіброзі печінки вивчений недостатньо та потребує подальшого вивчення.

РОЗДІЛ 2
МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Клінічна та параклінічна характеристика хворих

Дослідження проводилось на базі кафедри інфекційних хвороб з курсом епідеміології ВНМУ ім. М. І. Пирогова, гепатологічного відділення Lewanika General Hospital (Замбія).

Робота була проведена з дотриманням основних положень GCP та етичних принципів Гельсінської декларації (1975р. і її перегляду 1983р.), усі пацієнти були ознайомлені з метою та завданням дослідження і дали письмову згоду на проведення всіх лікувально-діагностичних процедур.

На першому етапі дослідження з метою встановлення поширеності HBV–інфекції було ретроспективно проаналізовано зразки крові 22355 донорів, які протягом 2014-2017 років зверталися до лікарні Lewanika General Hospital в Західній провінції Замбії. Всі обстежені були практично здорові особи віком від 12 до 65 років (середній вік 32,12±8,47 роки). Серед донорів переважали жінки – 59,25% (13245 осіб), чоловіків було 40,75% (9110 осіб) (рис. 2.1).

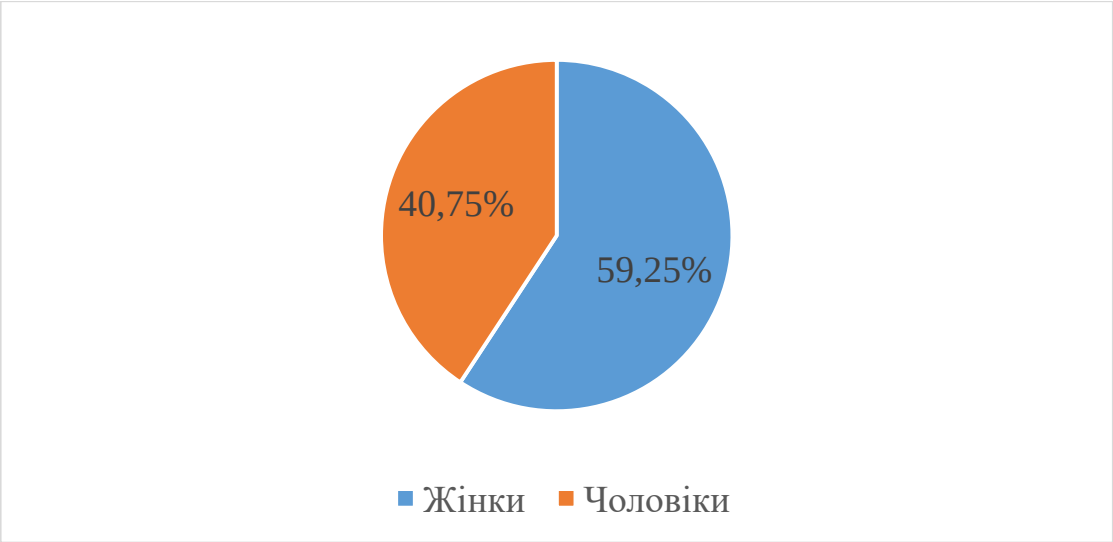

Рис. 2.1 - Розподіл обстежуваних донорів за статтю

Серед обстежених донорів, переважали особи вікової групи 20-49 років (p=0,025) (рис.2.2).

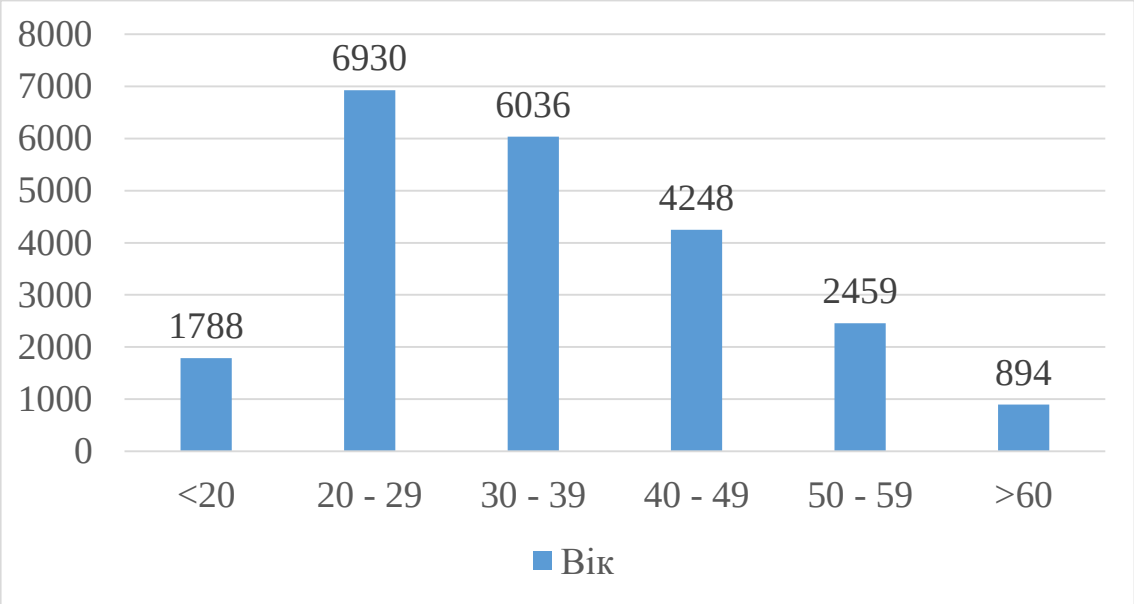

Рис. 2.2 - Розподіл обстежуваних донорів за віком

В наше дослідження було включено 94 пацієнти, які знаходились на диспансерному обліку гепатологічного відділення Lewanika General Hospital (Замбія) віком 18-63 роки. Середній вік по групі склав 47,7±10,3 років. Серед обстежених пацієнтів переважали чоловіки 57 (60,64%). Хворі були поділені на дві групи: основна та співставлення, що були репрезентативні за віком, статтю та расою. Всі хворі були корінними жителями Замбії, народності Лозі.

Характеристика основної групи хворих

Серед обстежаних було 53 пацієнти з HBV/HIV-коінфекцією, які склали основну групу. Серед хворих з HBV/HIV-коінфекцією було чоловіків 60,38% (рис 2.3).

Рис. 2.3 - Розподіл пацієнтів основної групи за статтю

Середній вік складав 36,59±3,61 років. Найбільший відсоток інфікованих припадає на вік від 30 до 59 років, що свідчить про ураження когорти населення найбільш працездатного віку (табл. 2.1).

Таблиця 2.1 - Розподіл пацієнтів основної групи за віком

Кількість пацієнтів n=94	Вік, роки					
	<20	20–29	30–39	40-49	50-59	>60
Інфіковані HBV/HIV-коінфекцією (n=53)	-	7 (13.21%)	13 (24.53%)	10 (18.87%)	15 (28.3%)	8 (15,09%)

Критеріями включення в основну групу була наявність в сироватці крові одночасно маркерів HBV-інфекції (HBsAg) та HIV-інфекції (анти-HIV) методом ІФА, проведення пункційної біопсії печінки з подальшим гістологічним дослідженням гепатобіоптатів.

Критеріями виключення було інфікування іншими гепатотропними вірусами, наявність автоімунних, метаболічних захворювань печінки,

злоякісні новоутворення печінки не вірусної етіології.

Пацієнтам було проведено комплексне обстеження, що включало вивчення скарг, анамнезу життя та захворювання, епідеміологічного анамнезу, об'єктивне обстеження, характеристику синдромів, комплекс лабораторних (загальноклінічних, біохімічних, імунологічних, молекулярно-генетичних), інструментальних та морфологічних досліджень. Всім хворим була проведена ПБЦ. Фіброгенез в печінці оцінювали за допомогою пункційної біопсії з наступним морфологічним дослідженням. Ступінь фіброзу печінки F1-F2 була визначена у 26 (49,05%) хворих з HBV/HIV-коінфекцією а фіброз F3 – F4 у 27 (50,95%) з HBV/HIV-коінфекцією. (рис. 2.4).

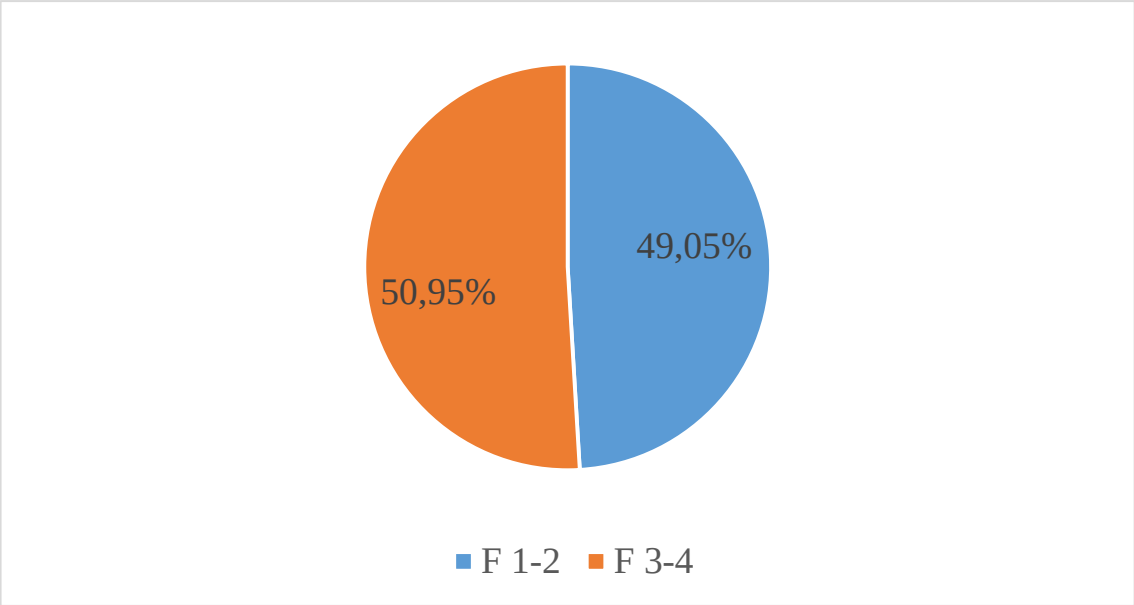

Рис. 2.4 - Розподіл пацієнтів основної групи за ступенем фіброзу печінки

Всі отримані дані та результати додаткових досліджень вносились до спеціально розробленої індивідуальної карти пацієнта.

Характеристика групи співставлення

В групу співставлення увійшли 41 пацієнт з HBV-моноінфекцією, що знаходились на обліку в лікарні Lewanika General Hospital в Західній провінції Замбії. Серед хворих було чоловіків 60,98% та 39,02% жінок (рис. 2.5).

Рис. 2.5 - Розподіл пацієнтів групи співставлення залежно від статі

Середній вік 32,71±2,87 р. Найбільший відсоток інфікованих припадає на вік від 30 до 59 років (табл. 2.2).

Таблиця 2.2 - Розподіл пацієнтів групи співставлення залежно від віку

Кількість пацієнтів n=94	Вік, роки					
	<20	20–29	30–39	40-49	50-59	>60
Інфіковані HBV-моноінфекцією (n=41)	2 (4,88%)	8 (19,51%)	14 (34,14%)	10 (24,39%)	4 (9,76%)	3 (7,32%)

Група здорових осіб

В групу контролю було включено 24 практично здорових респонденти, які були репрезентативні за віком та статтю.

2.2 Методи дослідження

Усім пацієнтам, що увійшли у дослідження проводились загальноклінічні, біохімічні, серологічні, молекулярно–генетичні та морфологічні дослідження**.**

Клінічні методи дослідження. Усі хворі були опитані на наявність скарг, що вказували б на наявність чи відсутність астеновегетативного (загальна слабкість, підвищена втомлюваність, порушення сну), диспепсичного (важкість в правому підребір'ї, нудота, зниження апетиту) жовтяничного (іктеричність склер та шкіри), холестатичного (гіркота в роті, свербіж шкіри) синдромів та проведено об'єктивне обстеження за загальновизнаною методикою для виявлення гепато- та спленомегалії.

Лабораторні методи дослідження. Оцінювались лабораторні показники основних синдромів ураження печінки – цитолітичного (АЛТ, АСТ, ЛДГ), холестатичного (загальний, прямий та непрямий білірубін, ГГТ, ЛФ), печінково-клітинної недостатності (загальний білок, альбумін, холестерин, протромбіновий індекс). Данні дослідження здійснювались на базі лабораторії Lewanika General Hospital (Замбія) на апараті Pentra C200 (Франція) з використанням реагентів HORIBA ABX SAS (Франція).

Ступінь активності патологічного процесу визначали згідно міжнародної класифікації захворювань печінки (Лос-Анжелес, 1994) за рівнем підвищення активності АЛТ в сироватці крові: мінімальне підвищення – <3-х норм (<3,4 мкмоль/с/л), помірне підвищення – ≥3-х норм але <10-и норм (3,4≤АЛТ<6,8 мкмоль/с/л), виражене підвищення – ≥10-и норм (≥6,8 мкмоль/с/л).

Визначення рівня активності трансаміназ в сироватці крові – АЛТ (N 0,1-0,68 ммоль/(год*л)), АСТ (N 0,1-0,45 ммоль/(год*л)) проводилося уніфікованими методами Райтмана-Френкеля та ЛДГ (N <4,5 ммоль/(год*л)) методом Севела-Товарека.

Вміст загального білірубіну (N 8,5-20,5 мкмоль/л) та його фракції (прямий – N 0,0 – 3,4 мкмоль/л, непрямий - N 3,5–15,5 мкмоль/л) визначали уніфікованим методом Єндрасика-Грофа-Клегхорна, ГГТ (N 7-32 МО/л) за швидкістю вивільнення 4-нітроаніліну з γ-глутамілнітроаніліду, та лужної фосфатази (N 42-128 МО/л) колориметричним методом з р-нітрофенолом.

Для оцінки синдрому печінково-клітинної недостатності визначали вміст загального білку в сироватці крові (N 60,0 – 80,0 г/л) мікробіуретовим методом, альбуміну в сироватці крові (N 35,0 – 50,0 г/л) уніфікованим методом з бромкрезоловим зеленим, холестерину (N 0,0 – 6,2 млмоль/л) та величину протромбінового індексу (>80%) уніфікованим методом Ілька.

Визначали абсолютний і відсотковий вміст Т- хелперів (CD-4) в сироватці крові уніфікованим методом проточної цитометрії (MACSQuant Analyzer 10, Miltenyi Biotec).

Серологічні та молекулярно-біологічні методи.

Вміст α-фетопротеїну для оцінки ризику виникнення ГЦК визначали методом ІФА з використанням стандартних наборів фірми IMMUNOTECH, Франція.

Визначення сумарних anti-HIV та HBsAg проводилось методом ІФА на тест-системах CMIA Architect Plus test system (Abbot, Сінгапур).

Дослідження проводились на базі лабораторії Lewanika General Hospital (Замбія).

Вміст IP-10 (Interferon-gamma inducible Protein 10 kDa) в сироватці крові визначали імуноферментним (ІФА) методом (ELISA) з використанням набору “Human IP-10 ELISA Kit” (Diaclone, Франція), у відповідності до інструкції фірми-виробника. В лунки планшетів, на стінках яких адсорбовані

антитіла до IP-10, додавали по 100 мкл стандартних розчинів (з відомими концентраціями IP-10 – 6,25; 12,5; 25; 50; 100; 200 пг/мл), 100 мкл проб, інкубували 120 хвилин при 22°С. Далі лунки 4 рази промивали буферним розчином, вносили 50 мкл біотинового кон'югату, інкубували 60 хв. при 22°С, промивали 4 рази. Вносили 100 мкл ензимного кон'югату (стрептавідин-пероксидази), перемішували, закривали лунки адгезивною плівкою. Інкубували 30 хв. при 22°С для утворення на твердій фазі комплексу АТ-АГ-АТ-ензим. Лунки відмивали від надлишку незв'язаних реагентів, вносили в них по 100 мкл хромогенного субстрату. Перемішували, інкубували 15 хв. при 22°С, реакцію зупиняли 100 мкл стоп-розчину і фотометрували при 450 нм (диференційний фільтр 630 нм) на автоматичному аналізаторі STAT FAX 303/PLUS. Чутливість набору <5,7 пг/мл, коефіцієнт варіації <10%.

Для визначення вмісту інтерлейкіну 17А (IL-17A) в сироватці крові методом ІФА використовували набір "Human IL-17A ELISA Kit" (Diaclone, Франція) у відповідності до інструкції фірми-виробника. В лунки планшетів, на стінках яких адсорбовані антитіла до IL-17A, додавали стандартні розчини по 100 мкл (з відомими концентраціями IL-17A – 3,12; 6,25; 12,5; 25; 50; 100 пг/мл), 100 мкл проб, інкубували 120 хвилин при 22°С. Далі лунки 4 рази промивали буферним розчином, вносили 50 мкл біотинового кон'югату, інкубували 60 хв. при 22°С, промивали 4 рази. Вносили 100 мкл ензимного кон'югату (стрептавідин-пероксидази), перемішували, закривали лунки адгезивною плівкою. Інкубували 30 хв. при 22°С для утворення на твердій фазі комплексу АТ-АГ-АТ-ензим. Лунки відмивали від надлишку незв'язаних реагентів, вносили в них по 100 мкл хромогенного субстрату. Перемішували, інкубували 15 хв. при 22°С, реакцію зупиняли 100 мкл стоп-розчину і фотометрували при 450 нм (диференційний фільтр 630 нм) на автоматичному аналізаторі STAT FAX 303/PLUS. Чутливість набору <2,3 пг/мл, коефіцієнт варіації <5%.

Дослідження проводилось на базі кафедри біологічної та загальної хімії ВНМУ ім. М. І. Пирогова, для цього були взяті проби сироватки крові, що зберігались при -20^{o}С у мікропробірках Еппендорф. Гемолізовані, ліпемічні зразки сироватки крові та зразки зі згортками не досліджувались.

Інструментальні методи. Проводилась ультразвукова сонографія (УЗД) печінки і селезінки відносно еталонного середовища. Ехографічні дослідження виконувались на УЗ сканері Siemens acuson sequoia 512 конвексним датчиком 3,75 МГц. Дослідження проводились на базі Lewanika General Hospital (Замбія).

Морфологічні методи. Для оцінки гістологічної картини ураження печінки визначались ступінь активності некрозозапального процесу та стадії фіброзу шляхом проведення черезшкірної пункційної біопсії печінки (ПБП) голками HandCut 18G (MDL, Італія) під УЗД-контролем на апараті Siemens acuson sequoia 512.

ПБП проводилась у Lewanika General Hospital (Замбія). Хворі госпіталізувались на 1-3 доби. Попередньо пацієнтам проводилось комплексне клініко-лабораторне обстеження, що включало в себе визначення основних гематологічних показників, протромбінового індексу, тривалості кровотечі та часу зсідання крові.

Для патогістологічного, гістохімічного, імуногістохімічного досліджень стовпчики трепанобіоптатів печінки фіксували в 10 % забуференому формаліні, проводили через ізопропіловий спирт зростаючої концентрації і заливали в парафін. З парафінових блоків на ротаційному мікротомі AMOS ERM 3100 виготовляли серійні зрізи завтовшки 4-5мкм, які використовували для стандартних патогістологічних, а також для імуногістохімічних досліджень. Для імуногістохімічних досліджень використовували серійні парафінові зрізи, розміщені на адгезивних предметних скельцях «Super Frost Plus» фірми «DAKO» Данія.

Дистрофічні зміни гепатоцитів, апоптоз, тільця Каунсільмена,

балонний цитоліз гепатоцитів, визначались при світловій мікроскопії парафінових зрізів, забарвлених гематоксиліном та еозином.

Основні патогістологічні зміни в печінці при фіброзі та цирозі досліджувались в серійних парафінових зрізах біоптатів, забарвлених гематоксиліном і еозином, за методом Ван-Гізон, а також з використанням імуногістохімічних методик.

Імуногістохімічні дослідження з використанням моноклональних антитіл виконувались в парафінових зрізах тканини печінки. Після депарафінізації і регідратації зрізів проводили температурне демаскування (шляхом нагрівання на водяній бані в цитратному (pH=6,0) або в Трис-ЕДТА буфері з pH=9,0), подавляли активність ендогенної пероксидази 3% розчином перекису водню та наносили блокуючу сироватку. Після інкубації з первинними антитілами відповідні антигени виявляли з використанням системи візуалізації EnVision FLEX+, Mouse, High pH «DAKO» з діамінобензидином.

Наявність уражених гепатоцитів при вірусному гепатиті В на фоні ВІЛ – інфекції визначали в парафінових зрізах непрямим імунопероксидазним методом з використанням антитіл до Hep Par 1 clone OCH1E5.2.10 «DAKO» та системи візуалізаці EnVision FLEX+, Mouse, High pH «DAKO» з діамінобензидином.

Клітини Купфера перисинусоїдальних зон печінки імуногістохімічно визначались за допомогою моноклональних антитіл CD34 Clone QBEnd 10 та Vimentin, Clone V9, («DAKO», Данія) та системи візуалізаці EnVision FLEX+, Mouse, High pH «DAKO» з діамінобензидином.

Для ідентифікації клітин жовчних проток використовували моноклональні антитіла до Cytokeratin7 (Clone OV-TL 12/30) «DAKO» та систему візуалізаці EnVision FLEX+, Mouse, High pH «DAKO» з діамінобензидином.

Ступінь стеатозу печінки визначали в препаратах, забарвлених

гематоксиліном і еозином, в стандартизованій площі гістологічного зрізу печінки (СПГЗП), якою було його цифрове зображення в фотокамері Canon DS 126311 (Японія), зняте на мікроскопі Erma EZ 122F (Японія) при збільшенні х200. За градацією E.M. Brunt, D.E. Kleiner (2005) визначали легкий S1, помірний S2 та тяжкий S3 ступінь стеатозу печінки.

У парафінових зрізах, забарвлених за Ван-Гізон, згідно модифікованої градації E.M. Brunt, D.E. Kleiner, L.A. Wilson et al. (2011) визначали перисинусоїдально - перицелюлярний або портально-Z1-3 перисинусоїдальний тип фіброзу печінки, а також ступінь його тяжкості за шкалою METAVIR: F0 – відсутність фіброзу, початковий (портальний фіброз без септ) - F1, помірний (портальний фіброз з поодинокими септами) - F2, виражений (множинні септи без цирозу), F3 фіброз і F4 цироз печінки.

Методи статистичної обробки матеріалу.

У роботі оцінювались як якісні показники, так і кількісні. Використовуючи метод визначення достовірності за допомогою середніх помилок (m) встановлена необхідна достовірність отриманих показників, яка становила 95,5% достовірності, можливе відхилення від отриманих нами результатів не перевищувала ±5%, що є стандартною вимогою для клінічних досліджень і доведення їх достовірності. Статистичний обробка цих даних проводився із застосуванням t-критерію вірогідності різниці Ст’юдента та ступеню вірогідності (p) на персональному комп’ютері із використанням пакету програм «STATISTICA 6,0» (належить ЦНІТ ім. М.І. Пирогова, ліцензійний № AXXR910A374605FA) та “Microsoft Excel”.

У роботі оцінювались як якісні показники, так і кількісні. Використовуючи метод визначення достовірності за допомогою середніх помилок (m) встановлена необхідна достовірність отриманих показників, яка становила 95,5% достовірності, можливе відхилення від отриманих результатів не перевищувала ±5%, що є стандартною вимогою для клінічних досліджень і доведення їх достовірності. Статистичний обробка цих даних

проводився із застосуванням t-критерію вірогідності різниці Ст'юдента та ступеню вірогідності (p). Для оцінки діагностичної ефективності методик визначення рівнів IP-10, IL-17A при оцінці фіброзу печінки застосовувся ROC-аналіз з побудовою ROC-кривих (оперативна характеристична крива спостереження): чим ближче до лівого верхнього кута координатної сітки розташована крива, тим вище інформативність досліджуваного методу діагностики або краще якість системи відображення даних. Якщо крива прилягає до діагоналі (або збігається з нею), то інформативність методу незначна. В якості істинно позитивних рішень виступав критерій «чутливість», а в якості помилково позитивних - критерії «специфічність». Якість прогностичної моделі, отриманої даним методом, оцінювалась, виходячи зі значень площі під ROC-кривою зі стандартною помилкою, 95% довірчим інтервалом (CI) і рівнем статистичної значущості. У дослідженнях типу "випадок-контроль" з метою оцінки сили асоціації рівнів IP-10, IL-17A зі ступенем фіброзу печінки розраховувався показник відношення шансів (OR) – співвідношення шансів прояву певного стану дихотомічної змінної в двох групах суб'єктів. Для розрахунку відношення шансів обчислювалась вірогідність впливу факторів в обстежуваних групах. Інтерпретація розрахованого показника проводилась наступним чином. Якщо OR = 1, то досліджуваний маркер не впливає на прояв ознаки. OR>1 означає, що маркер асоційований з підвищеними шансами прояву ознаки, а OR<1, навпаки – зі зниженими. З метою оцінки точності OR розраховувався 95% довірчий інтервал (CI). Чим більший інтервал, тим менша точність OR. Якщо в довірчий інтервал входила одиниця, показник OR вважався недостовірним.

РОЗДІЛ 3
ПОШИРЕНІСТЬ HBV ІНФЕКЦІЇ СЕРЕД ДОНОРІВ ЗАХІДНОЇ ПРОВІНЦІЇ ЗАМБІЇ

HBV-інфекція залишається важким захворюванням, що має масштабне соціально-економічне значення у зв'язку із значною кількістю інфікованих, розвитком важких ускладнень, високою летальністю та нерівномірністю доступності лікування. У світі нараховується близько 400 млн людей, які інфіковані вірусом гепатиту В.

HBV, HCV і HIV-інфекції мають спільні шляхи передачі і подібні за ендемічною розповсюдженістю, що збільшує ймовірність виникнення поєднаної інфекції у пацієнтів [1, 2].

За даними міжнародних досліджень в світі на даний час нараховується більше 170 млн носіїв вірусу HCV, і також близько 35 млн. людей мають ВІЛ-інфекцію, серед них близько 70% - жителі країн Африки. Згідно даних ВООЗ країни Південної Африки належать до середньоендемічних за ВГВ регіонів, де поверхневий антиген ВГВ (HBsAg) визначається у ≈ 7 % населення. В той же час в південноафриканському регіоні спостерігається низький рівень поширеності ВГС - ≈ 2% населення [2-4]. Однак, ці цифри не можна вважати повністю достовірними, так як по багатьом окремим країнам суб-Сахарної Африки статистичні данні по розповсюдженості цих вірусних інфекцій неповні, або взагалі відсутні по деяких регіонах.

Нами було проведено ретроспективне дослідження зразків донорської крові в період з січня 2014 року по грудень 2017 року в Lewanika General Hospital Західної провінції Замбії.

Протягом 2014-2017 років було проведено обстеження 22355 донорів, які зверталися до лікарні Lewanika General Hospital в Західній провінції Замбії. Обстежені респонденти були практично здорові особи віком від 12 до

65 років (середній вік 32,12±8,47 роки). Серед донорів переважали жінки – (59,25% - 13245 осіб), чоловіків було 40,75% (9110 осіб).

Згідно отриманих нами даних маркери HBV-інфекції (HBsAg) були виявлені у сироватці крові 6,7% донорів (1489 осіб). Anti-HIV в сироватці крові виявлялися у 1743 обстежених донорів (7,8 %,), найменша кількість донорів була інфікована HCV-інфекцією - у 373 особи (1,7 %) в сироватці крові виявлялися anti-HCV. Лише в 2017 році, у зв'язку з покращенням статистичної звітності, було зареєстровано 47 донорів з конфекцією HBV/HIV (наявність в сироватці крові HBsAg та anti-HIV), що склало 0,90% (табл. 3.1).

Таблиця 3.1 - Поширеність HBV, HCV, HIV-інфекцій серед донорів Західної провінції Замбії (огляд 2014-2017 рр.)

Роки	Донори	HIV		HBV		HCV	
	(абс.)	(абс.)	(%)	(абс.)	(%)	(абс.)	(%)
2014 р.	6813	822	12.07%	567	8.33%	184	2.70%
2015 р.	4983	271	5.44%	366	7.34%	115	2.30%
2016 р.	5357	351	6.55%	293	5.47%	29	0.54%
2017 р.	5202	299	5.75%	263	5.05%	45	0.86%
Всього	**22355**	**1743**	**7,8%**	**1489**	**6,7%**	**373**	**1,7%**

Оцінка динаміки поширеності HBV, HIV та HCV інфекцій серед донорів Західної провінції Замбії показала статистичне їх зниження протягом останніх 5 років. Однак, дана динаміка була неоднорідною. Так, найменшою вона була стосовно HBV-інфекції, кількість інфікованих донорів зменшилась лише в 1,65 рази. В порівнянні, донорів, у яких в сироватці крові були виявлені анти- HIV в 2017 році було в 2,10 рази менше порівняно з 2014 роком. Ймовірно, чинником даної регресії стала зміна діагностично-

лікувального підходу, а саме рання скринінгова діагностика та збільшення відсотка охоплення специфічною противірусною терапією (насамперед антиретровірусною) інфікованих. Найбільша різниця була зафіксована серед інфікованих HCV-інфекцією, кількість яких серед когорти донорів зменшилась в 3.13 рази (рис. 3.1).

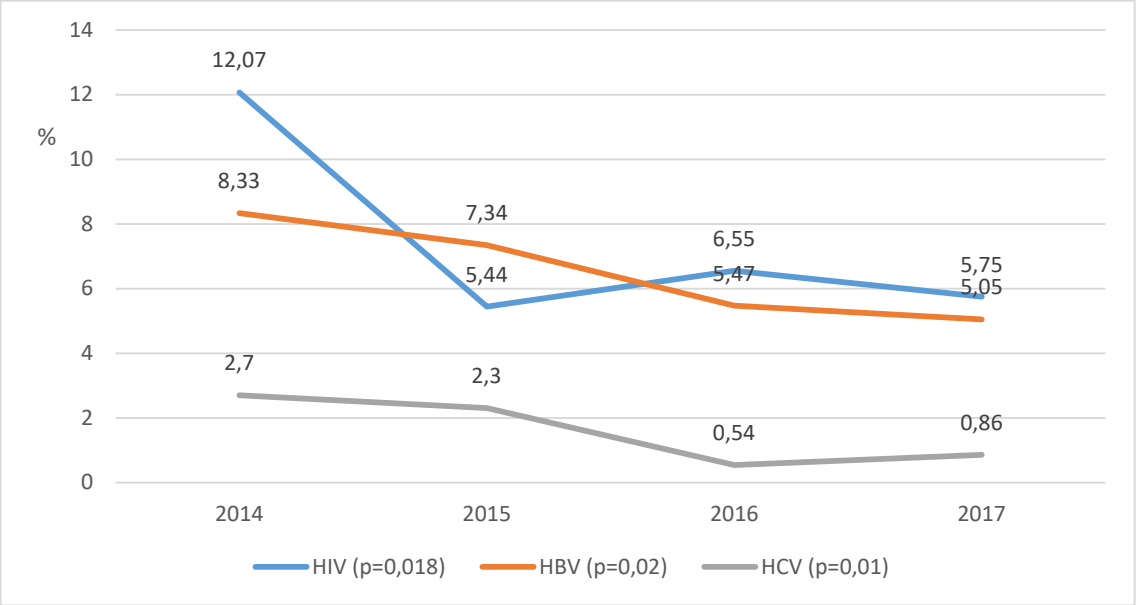

Рис. 3.1 - Динаміка поширеності HIV, HBV, HCV у донорів крові Західної провінції Замбії (Lewanika General Hospital, 2014-2017 рр.)

Розподіл донорів за географічною розповсюдженістю виявив достовірне превалювання частки респондентів з позитивними маркерами HBV (p=0,025), HIV (p=0,021), HCV (p=0,09) у регіоні Limulunga Західної провінції Замбії порівняно з іншими регіонами (рис 3.2). В цьому регіоні розповсюдженість HBV-інфекції склала 7,06% (713 донорів з HBsAg), що було достовірно вище за поширеність HCV-інфекції (174 донори - 1,72%) та HBV/HIV коінфекції (23 донори - 0,23%) (p=0,001). Така ж картина спостерігалась серед донорів регіонів Kalabo - 5.96% HBV-інфікованих (602 донори з HBsAg) (p=0,002) та Kaoma - 6,81% HBV-інфікованих донорів (688 осіб) (p=0,001) Західної провінції Замбії.

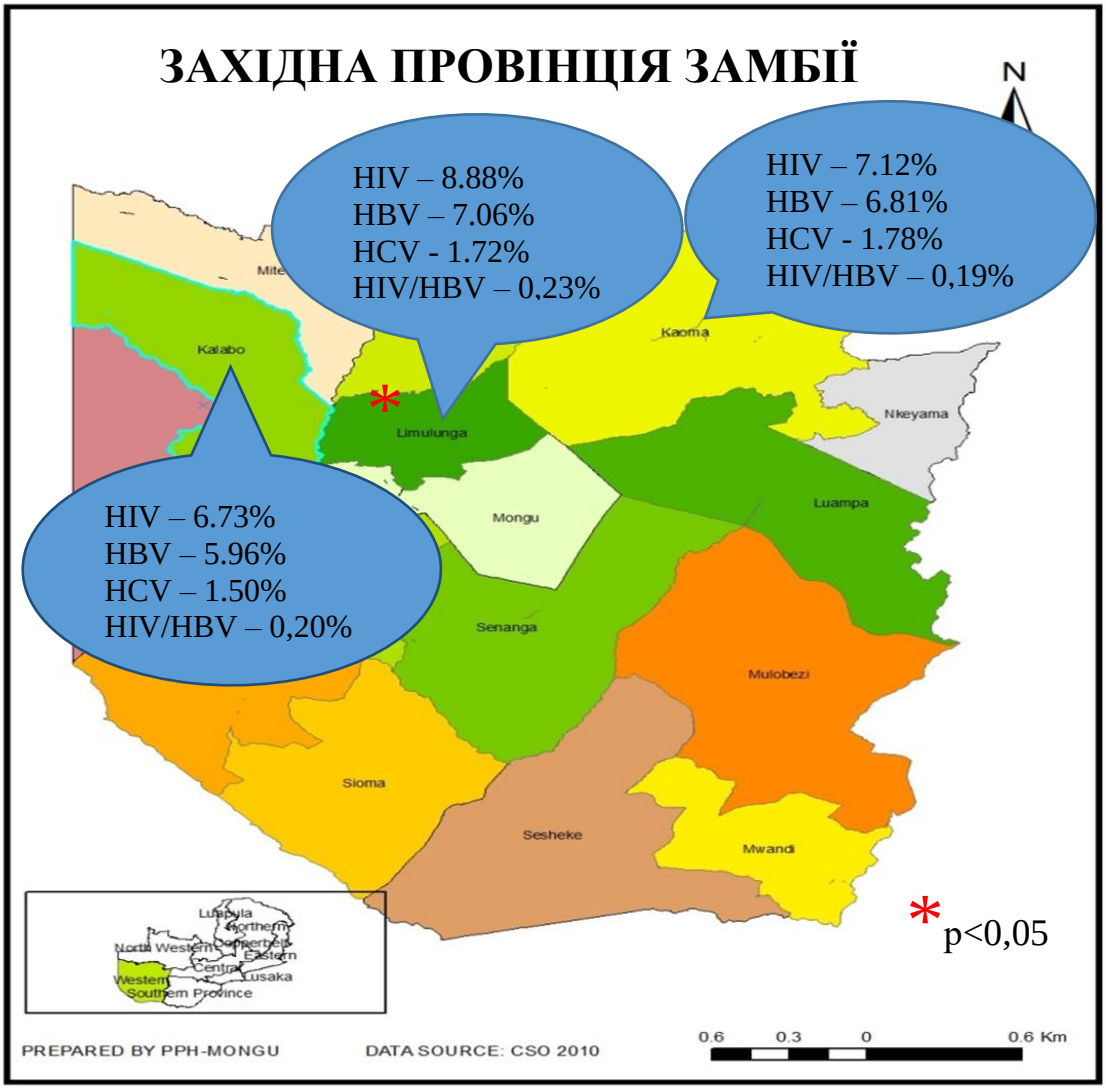

Рис. 3.2 - Поширеність HIV, HBV, HCV у донорів крові по регіонах Західної провінції Замбії

Серед обстежених донорів чоловічої статі з високим ступенем достовірності (p=0,002) переважали особи з наявністю маркерів HBV-інфекції, чоловіків, у яких в сироватці крові був виявлений HBsAg, було в 3,82 рази більше,ніж HCV-інфікованих (табл.3.2). Зафіксовано також достовірно вищий відсоток HBV-інфікованих в порівнянні з HIV-інфікованих серед чоловіків. Подібна картина спостерігалася серед донорів жіночої статі, де кількість HBV-інфікованих донорів була в 4,22 рази більшою, ніж HCV-інфікованих.

В цілому поширеність HIV-інфекції серед респондентів жіночої статі виявилась достовірно вищою (p=0,0009), аніж HBV, HCV, HIV/HBV - інфекцій.

Таблиця 3.2 - Розподіл донорів Західної провінції Замбії за статтю

	Донори (n=22355)	HIV (n=1743)	HBV (n=1489)	HCV (n=373)	HIV/HBV (n=47)	P*
чоловіки	9110	724 (7,95%)	807 (8,86%)	211 (2,32%)	28 (0.31%)	0,002
жінки	13245	1019 (7,69%)	682 (5,15%)	162 (1,22%)	19 (0.14%)	0,0009

Примітка: * - різниця достовірна між групами хворих з різними нозологіями в межах однієї статі.

Згідно отриманим даних, нами не будо виявлено достовірної різниці інфікованості HBV-інфекцією в залежності від статі, переважання донорів - чоловіків при цій інфекції було на рівні тенденції. (рис. 3.3).При HCV-інфекції донорів чоловіків було в 1,30 рази більше ніж жінок .

Лише в групі HIV-інфікованих донорів переважали жінки. Їх було в 1,41 рази більше ніж чоловіків. Серед донорів з коінфекцією жінок також було в 1,47 рази більше ніж чоловіків.

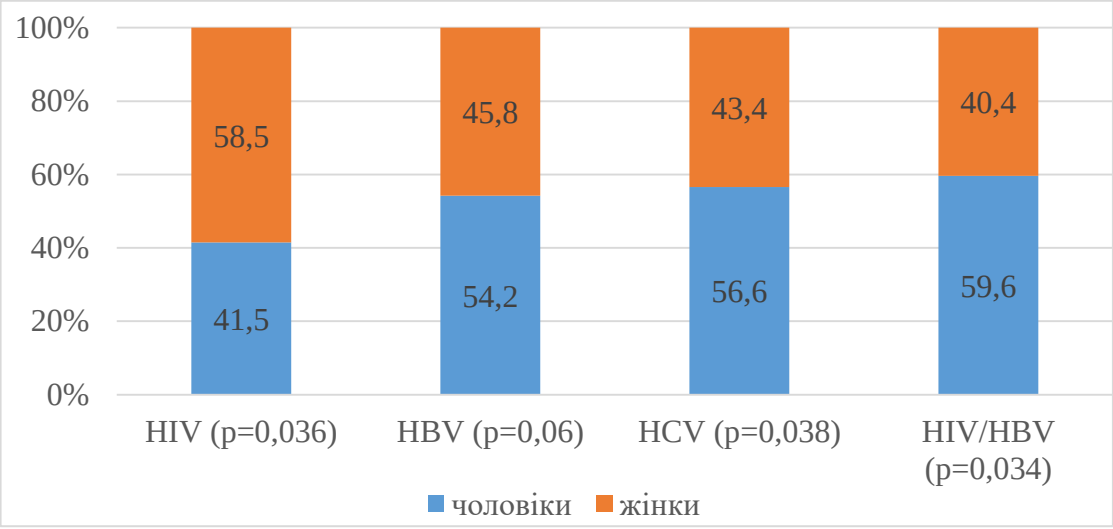

Рис. 3.3 - Розподіл HIV, HBV, HCV, HIV/HBV позитивних донорів Західної провінції Замбії за статтю

Проведений нами аналіз поширеності інфікованості донорів Західної провінції Замбії встановив, що у вікових групах 40-49 років (p=0,0005) та 50-59 років (p=0,005) серед донорів переважають ті, в чиїх зразках крові визначались позитивні маркери HBV-інфекції (табл. 3.3). В молодших донорів віком 18-40 років вірогідно превалювала наявність HIV-інфекції. Серед донорів старшої вікової групи (більше 60 років), вірогідно вищим був показник поширеності HCV-інфекції, що склав 10,51% від кількості обстежених даного віку (p=0,004).

Серед обстежених донорів, переважали особи вікової категорії 20-49 років (p=0,025).

Таблиця 3.3 - Розподіл донорів Західної провінції Замбії за віком

Вік, роки	Донори (n=22355)	HIV (n=1743)	HBV (n=1489)	HCV (n=373)	HIV/HBV (n=47)	P*
<20	1788	94 (5,25%)	41 (2,29%)	3 (0,17%)	-	0,001
20–29	6930	602 (8,69%)	78 (1,12%)	28 (0,40%)	3 (0.01%)	0,002
30–39	6036	551 (9,13%)	487 (8,06%)	24 (0,40%)	9 (0.04%)	0,0007
40-49	4248	346 (8,15%)	634 (14,92%)	87 (2,05%)	7 (0.03%)	0,0005
50-59	2459	101 (4,11%)	155 (6,3%)	81 (3,29%)	16 (0.07%)	0,005
>60	894	49 (5,48%)	94 (10,51%)	150 (1,68%)	12 (0,05%)	0,004

Примітка: * - різниця достовірна між групами хворих з різними нозологіями в межах однієї вікової категорії

Проведений нами аналіз встановив різницю в віковій структурі інфікованих донорів в залежності від етіології збудника (рис. 3.4).

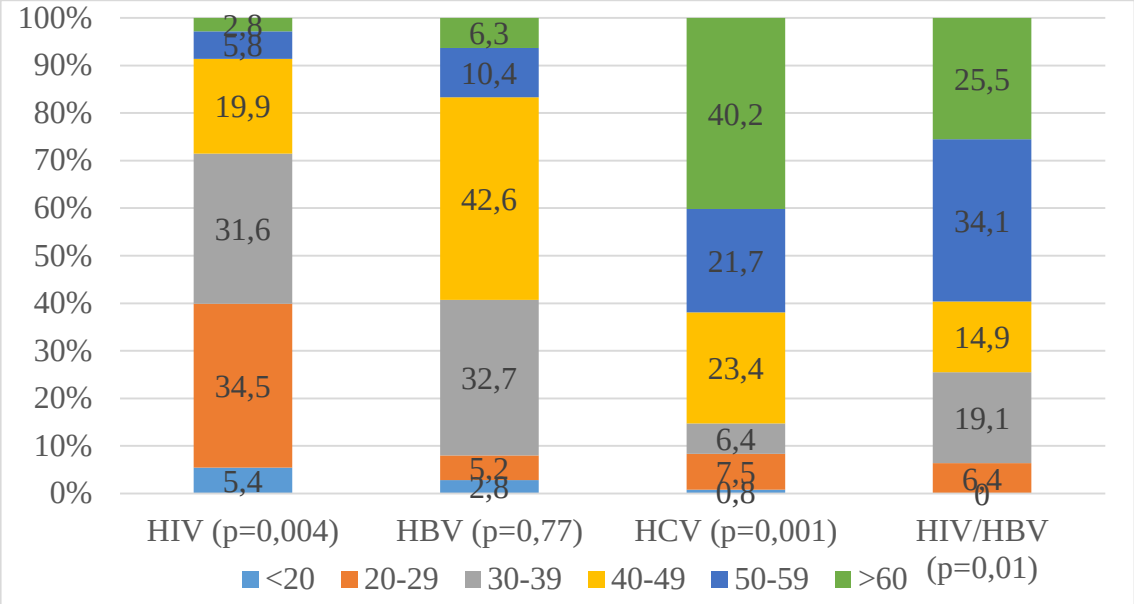

Рис. 3.4 - Розподіл HIV, HBV, HCV, HIV/HBV позитивних донорів Західної провінції Замбії за віком

Переважна більшість HBV-інфікованих донорів виявлялися в середній віковій групі 30-49 років (75,3%), а більше половини (59,3%) складали особи в віці старше 39 років, яких було в 2,08 рази більше ніж серед HIV-інфікованих. Серед HIV-інфікованих донорів 71,5% складали особи молодого віку до 40 років, що було достовірно більше у 2,8 рази, ніж в групах донорів, інфікованих іншими вірусами (p=0,02). При HCV-інфекції інфікованою виявилась майже половина (40,2%) донорів старшої вікової групи (60 років). Особи більш старшого віку (50 років), за нашими даними, в 59,6% мали коінфекцію HIV/HBV.

Нами встановлено, що серед HBV-інфікованих донорів більше половини (59,3%) складали особи в віці старше 39 років, яких було в 2,08 рази більше ніж серед HIV-інфікованих.

Близько 82% виявлених випадків пов’язані зі статевим шляхом передачі, 18% - інші шляхи передачі, зокрема вертикальний та ін’єкційний.

Резюме. Підсумовуючи отримані нами дані, встановлений високий рівень поширенності HBV-інфекції серед донорів західної провінції Замбії - у 6,7% обстежених виявлялися маркери HBV-інфекції. У 7,8% були виявлені позитивні маркери HIV-інфекції, а у 6,7% - HBV-інфекції. Поширеність HCV-інфекції у даній когорті була незначною та складала у 1,7%.

За останні 5 років спостерігалась негативна динаміка в показниках інфікованності основними вірусними інфекціями донорів західної провінції Замбії. Однак, найменша динаміка спостерігалась стосовно HBV-інфеції, де кількість інфікованих донорів зменшилась лише в 1,65 рази. В той же час спостерігалось зниження показників інфікованості донорів HIV-інфекцією в 2,10 рази, та HCV-інфекцією у 3,13 рази.

За територіальною поширеністю найвища частка інфікованих донорів була у регіоні Limulunga Західної провінції Замбії ($p<0,05$). В цьому регіоні розповсюдженість HBV-інфекції склала 7,06%, що було достовірно вище за поширеність HCV-інфекції а- 1,72% та HBV/HIV коінфекції - 0,23% ($p=0,001$).

Серед донорів-чоловіків найвищий відсоток інфікованості припадав на HBV-інфекцію (8,86%), дещо менший на HIV-інфекцію (7,95%), а серед жінок – на HIV-інфекцію (7,69%) ($p<0,005$). HBV-інфікованих донорів-чоловіків було в 3,82 рази більше, ніж HCV-інфікованих та в 1,11 разів більше порівняно з HIV-інфікованими. Серед донорів жіночої статі кількість HBV-інфікованих була в 4,22 рази більшою, ніж серед HCV-інфікованих.

Встановлено, що HBV-інфікованих донорів в віці старше 39 років було в 2,08 рази більше ніж серед HIV-інфікованих. Отримані дані також вказують на низьку HBV-інфікованість серед осіб віком до 20 років, що пояснюється впровадженням обов'язкової вакцинації новонароджених [10], починаючи з 1998 р. В той же час, широка розповсюдженість HBV-інфекції серед осіб 30-49-річного віку свідчить про низький соціальний статус населення цього

вікового проміжку та популяризації вживання наркотичних засобів ін'єкційним шляхом.

Основні результати розділу опубліковані у наступних працях [3]:

1. Мороз, Л. В., Соні, С. Ч. (2018). Поширеність HIV, HBV, HCV інфекцій серед здорових донорів західної провінції Замбії. *Гепатологія,* 4 (42). 38–44.

РОЗДІЛ 4
КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ХГВ У ВІЛ-ІНФІКОВАНИХ ХВОРИХ ЗАМБІЇ

HBV-інфекція за своєю поширеністю та вагомою складовою в структуру летальності від хронічних захворювань печінки залишається однією з провідних проблем сучасної інфектології та гепатології [10]. До регіонів з несприятливою ситуацією стосовно HBV-інфекції належать насамперед країни суб-сахарної Африки, в яких поширеність даної інфекції сягає 8% місцевого населення [5]. Це обумовлено низкою факторів, серед яких основними є низька санітарна культура суспільства [2, 8], незахищений секс [7, 9], відсутність чіткої програми специфічної профілактики [5], виявлення та лікування HBV-інфекції [1, 8]. Тому питання ранньої діагностики та особливостям клінічного перебігу захворювання повинно приділятися значно більше уваги.

В свою чергу, висока поширеність ВІЛ-інфекції серед населення суб-сахарної Африки (5,75% за 2017 р. [13]) може асоціюватися з високим ризиком ускладненого коморбідного перебігу при поєднанні з ХГВ і негативно моделювати показники смертності у даному регіоні [11].

Наукові дослідження в цій галузі попри їх високу значущість, на жаль, не повністю відображають реальну статистичну картину. Зокрема, існує декілька робіт, в яких вченими розглянуто особливості проведення антиретровірусної терапії ВІЛ-інфікованих жителів Ефіопії з ймовірною-інфікованістю ВГВ [3]. В 2016 р. Lô G. et al. вперше торкається проблеми поширеності ВГВ серед хворих з ВІЛ 1 типу [6]. В цей же час вивчався перебіг ХГВ на тлі ВІЛ у пацієнтів Камеруну, за умов інфікування різними генотипами HBV [13].

У 2018 р. Maponga, T. G. et al. [12] при дослідженні залежності швидкості фіброгенезу у ВГВ/ВІЛ-коінфікованих від вірусного навантаження

HBV-інфекції помітили цікаву особливість: прогресування морфологічних змін печінки достовірно не відрізнялось серед пацієнтів з різним рівнем CD4, а тому рівень імуносупресії у ВІЛ-інфікованих, як вважалось раніше [4, 14], не може слугувати предиктором важкості коморбідного перебігу ХГВ/ВІЛ.

Зважаючи на відомі сучасній інфектології складні імунологічні, біохімічні, патофізіологічні реакції, що в сукупності становлять собою патогенетичний каскад у разі моноінфікованості ВГВ- чи ВІЛ-інфекцій, коморбідний перебіг ХГВ/ВІЛ й досі залишається маловивченим. Особливо перспективним наразі у світі є вивчення особливостей превентивної тактики для ВІЛ-інфікованих, в тому числі і від HBV [5].

Тим не менш, розробка валідних діагностичних, терапевтичних та профілактичних підходів у ХГВ/ВІЛ-пацієнтів суб-сахарної Африки потребує отримання більш точних статистичних даних щодо розповсюдження, вивчення особливостей клінічного перебігу та лабораторної динаміки.

Згідно отриманих нами даних найчастіше у хворих Замбії з коінфекцією ХГВ/ВІЛ виникали скарги на такі прояви астено–вегатативного синдрому, як загальна слабкість та підвищена втомлюваність. Так, загальну слабкість відзначали 86,79% обстежених хворих, що було в 1,98 рази частіше ніж у хворих групи порівняння з моноінфекцією ХГВ (табл. 4.1).

Скарги на підвищену втомлюваність в 1,22 рази частіше були також у пацієнтів з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції. Порушення сну турбувало хворих з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції в 7,73 рази частіше у порівнянні з пацієнтами з моноінфекцією ХГВ.

Диспептичний синдром зустрічався у значно менший кількості хворих. Майже у половини (43,40%) пацієнтів основної групи були скарги на важкість у правому підреберʼї, що було в 1,62 рази частіше, ніж у пацієнтів групи співставлення з моноінфекцією ХГВ. Періодична нудота турбувала

коінфікованих ХГВ/ВІЛ пацієнтів в 1,51 рази рідше, ніж моноінфікованих, а зниження апетиту, навпаки, в 1,33 рази частіше (табл. 4.1).

Таблиця 4.1 - Основні клінічні прояви у пацієнтів ко-інфекцією ХГВ/ВІЛ

Основні клінічні синдроми та симптоми		Хворі з ХГВ (n=41)	Хворі з ХГВ/ВІЛ (n=53)
Астено-вегетативний синдром	Підвищена втомлюваність	26(63,41%)	41(77,36%)
	Загальна слабкість	18(43,90%)	46 (86,79%)
	Порушення сну	1(2,44%)	10 (18,87%)
Диспептичний синдром	Періодична нудота	7(17,07%)	6 (11,32%)
	Важкість у правому підребер'ї	11(26,83%)	23 (43,40%)
	Зниження апетиту	7(17,07%)	12 (22,64%)
Субіктеричність склер та слизових оболонок		5(12,20%)	9 (16,98%)
Свербіж шкіри		1(2,44%)	5 (9,43%)
Гепатомегалія		22(53,66%)	32 (60,38%)
Спленомегалія		9(21,95%)	17 (32,08%)

Примітка: * $p<0,05$ між групами порівняння

При об'єктивному обстеженні пацієнтів обох груп субіктеричність склер та слизових оболонок фіксувалася в 1,39 рази частіше серед пацієнтів з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції. У незначної кількості хворих були скарги на свербіж шкіри і таких пацієнтів в групі з коінфекцією ВГВ/ВІЛ було в 3,86 рази більше, ніж серед пацієнтів з моноінфекцією ХГВ.

У більше, ніж половині обстежених хворих обох груп при пальпації виявлялася гепатолегалія. Однак, серед пацієнтів з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції таких було в 1,13 рази більше в порівнянні з хворими з моноінфекцією ХГВ. Збільшення розмірів селезінки при пальпації спостерігалось у третини

хворих з коінфекцією, що було в 1,46 рази більше, ніж у хворих з моно інфекцією ХГВ.

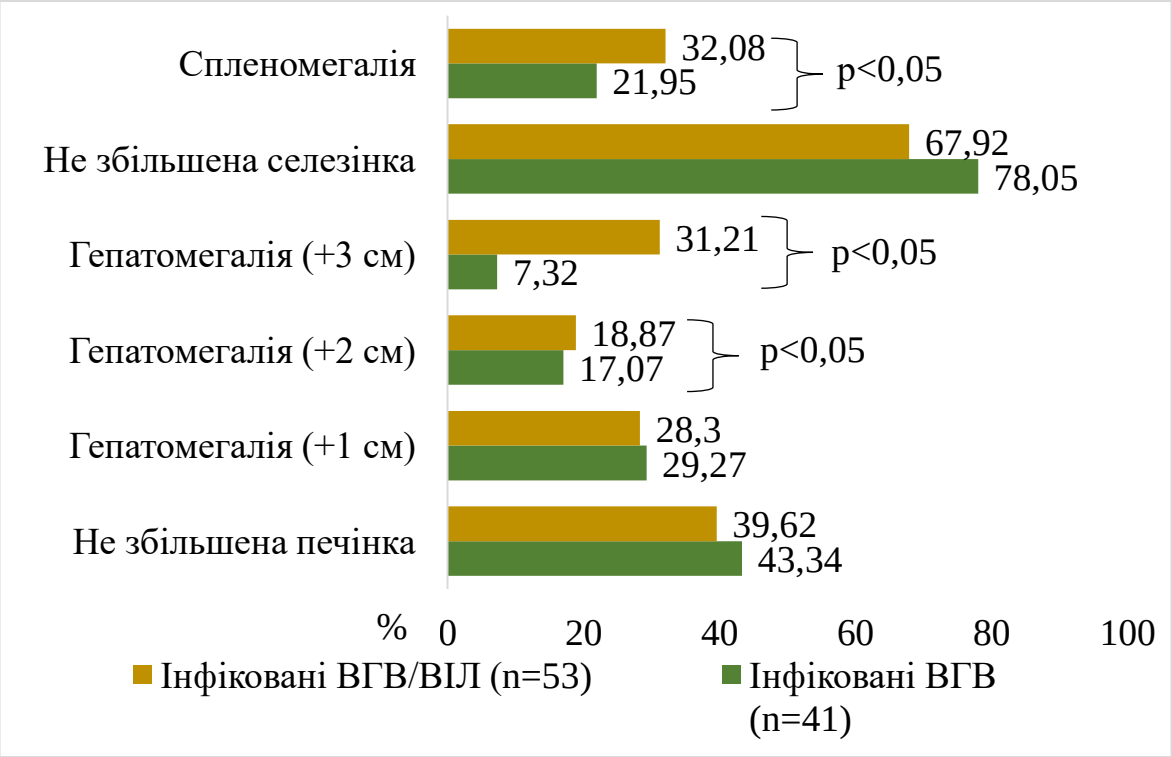

Рис. 4.1 - Розподіл хворих з ХГВ на фоні ВІЛ- інфекції за розмірами печінки та селезінки за даними УЗД

При інструментальному дослідженні органів черевної порожнини (УЗД) гепатомегалія в 1,13 разів частіше фіксувалася у пацієнтів основної групи з коінфекцією ХГВ/ВІЛ (рис.4.1). Збільшення розмірів печінки на 2 см за даними УЗД також виявлялося у пацієнтів з конфекцією достовірно частіше ($p<0,05$), ніж серед пацієнтів з моноінфекцією ХГВ. Пацієнтів зі збільшенням розмірів печінки на 3 см серед пацієнтів з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції було вже в 4,26 рази більше, ніж серед пацієнтів з моноінфекцією. Спленомегалія також частіше, в 1,46 рази, була зафіксована у хворих з конфекцією ХГВ/ВІЛ.

Серед коінфікованих ХГВ/ВІЛ достовірно частіше, ніж серед моноінфікованих було виявлено пацієнтів з підвищеними рівнями таких показників цитолізу, як АСТ та ЛДГ в сироватці крові ($p=0,044-0,045$). Так,

пацієнтів з підвищеним рівнем АСТ в сироватці крові було в 1,11 рази більше, а з підвищеним рівнем ЛДГ в сироватці крові в 1,13 рази серед пацієнтів з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції (рис. 4.2). Різниці між кількістю хворих з підвищеним рівнем АЛТ в сироватці крові в обох групах не було виявлено.

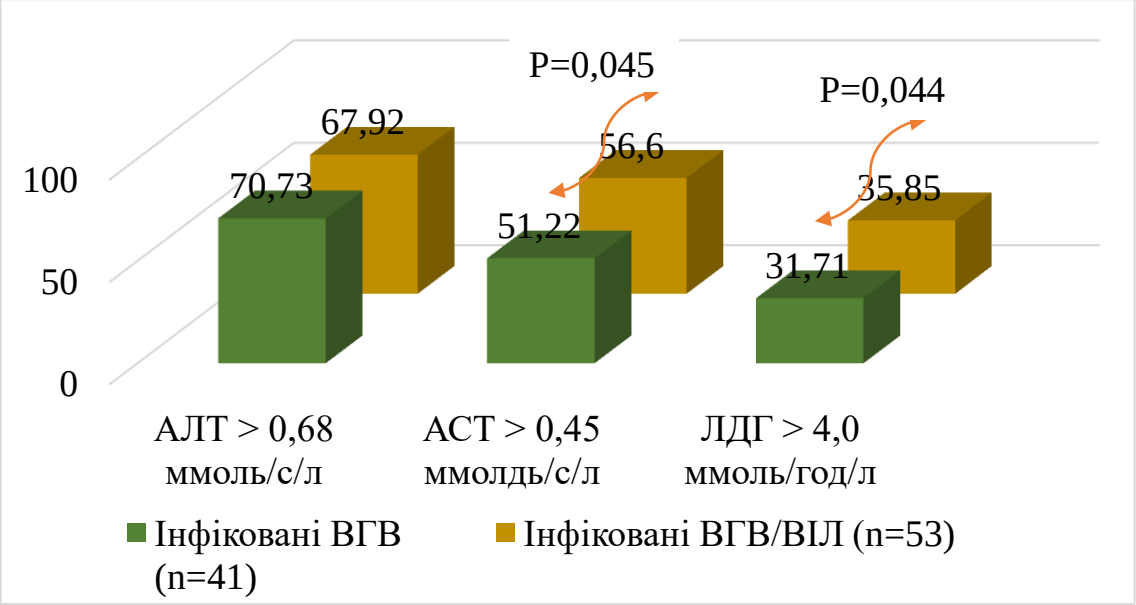

Рис. 4.2 - Частота відхилень від референтного інтервалу контролю показників цитолізу у хворих на ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції

Нами було виявлено достовірне підвищення рівнів основних показників цитолізу, як у хворих основної групи, так і у пацієнтів групи співставлення. Так, рівень АЛТ в сироватці крові у пацієнтів з коінфекцією ХГВ/ВІЛ був в 4,34 рази вищим в порівнянні зі здоровими, серед хворих з моноінфекцією ХГВ ця різниця була в 3,81 рази (табл. 4.2).

Рівень АСТ в сироватці крові хворих з ХГВ на тлі ВІЛ- інфекції був в 5,90 рази вищий в порівнянні зі здоровими особами, а у пацієнтів з моноінфекцією ХГВ - в 4,90 рази. Рівень ЛДГ в сироватці крові був в 2,76 та 2,68 рази вищим серед пацієнтів з ко- та моноінфекцією порівняно зі здоровими відповідно.

Було встановлено, що рівень АЛТ в сироватці крові коінфікованих пацієнтів Замбії був в 1,14 рази вищим, ніж аналогічний показник у хворих з моноінфекцією ХГВ. Такаж картина спостерігалася стосовно АСТ, рівень котрого в сироватці крові хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ був в 1,20 рази вищими ніж у пацієнтів з моноінфекцією ХГВ. Рівень ЛДГ в сироватці крові також був достовірно вищим у пацієнтів з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції ($p<0,05$).

Таблиця 4.2 - Показники синдрому цитолізу у хворих з ХГВ на фоні ВІЛ-інфекції

Показники	Здорові (n=24)	Хворі ХГВ (n=41)	Хворі ХГВ/ВІЛ (n=53)
АЛТ (ммоль/с/л)	0,32±0,13	1,22±0,25	1,39±0,34
АСТ (ммоль/с/л)	0,20±0,15	0,98±0,19	1,18±0,21
ЛДГ (ммоль/год/л)	1,74±0,13	4,66±1,27	4,80±1,36

Примітки:

1. $p<0,05$ – різниця достовірна між групами інфікованих ВГВ та ВГВ/ВІЛ;
2. $p<0,01$ – різниця достовірна між групами здорових та інфікованих

При дослідженні впливу рівня CD4 на зміни основних показників цитолізу у хворих з ХГВ на тлі ВІЛ- інфекції нами було встановлено, що рівень АЛТ в сироватці крові хворих основної групи з 2 клінічною групою ВІЛ-інфекції був 1,52 рази вищим, ніж у пацієнтів з менш вираженою імуносупресією (рис.4.3). Подібна картина спостерігалась стосовно динаміці рівня АСТ в сироватці крові, котрий у пацієнтів з ХГВ на тлі ВІЛ інфекції, за наявності 2 клінічної групи останньої (CD4 200-499 клітин/мкл), був в 1,29 рази вищим при співставленні з початковими стадіями імуносупресії. Найвищі рівні АЛТ та АСТ в сироватці крові в нашому дослідженні були

зафіксовані при 3 клінічній групі ВІЛ-інфекції (CD4 <200 клітин/мкл), однак мала вибірка пацієнтів не дозволяє достовірно оцінити ці дані.

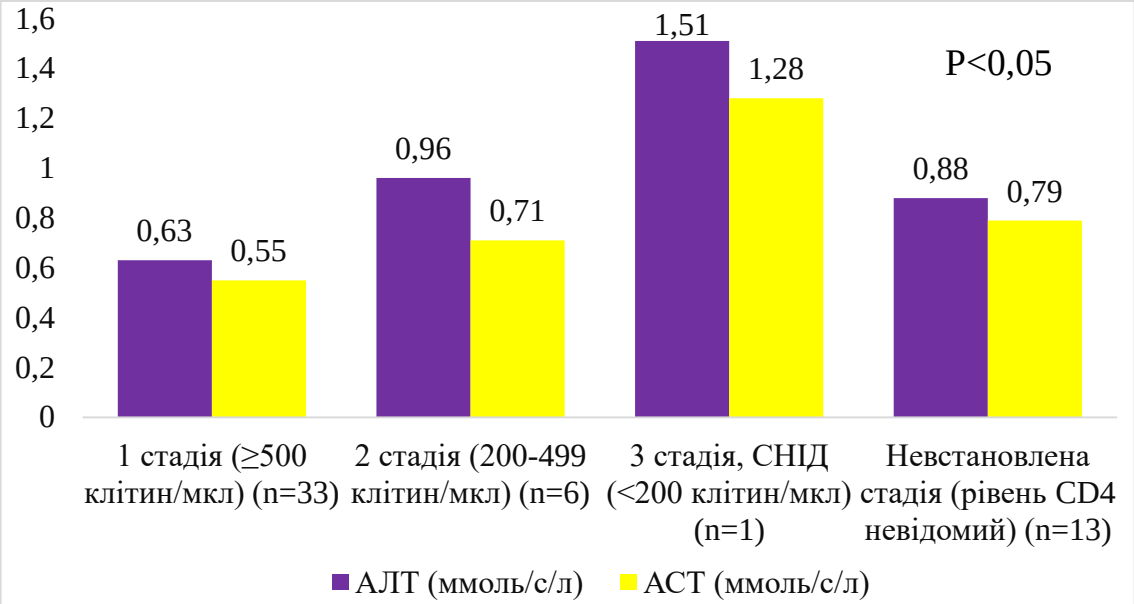

Рис. 4.3 - Показники синдрому цитолізу у пацієнтів з ХГВ /ВІЛ в залежності від рівня CD4

Різниця між кількістю хворих з підвищеними рівнями показників синдрому холестазу спостерігалася лише стосовно рівнів прямого та непрямого білірубіну у сиворотці крові. Так, нам встановлено, що кількість осіб з підвищеним рівнем непрямого білірубіну у сиворотці крові в групі пацієнтів з коінфекцією ХГВ/ВІЛ була в 1,29 рази більшою, ніж в групі з моноінфекцією ХГВ (рис. 4.4). Кількість хворих з підвищеним рівнем прямого білірубіну в сироватці крові також достовірно частіше зустрічалась в групі хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ.

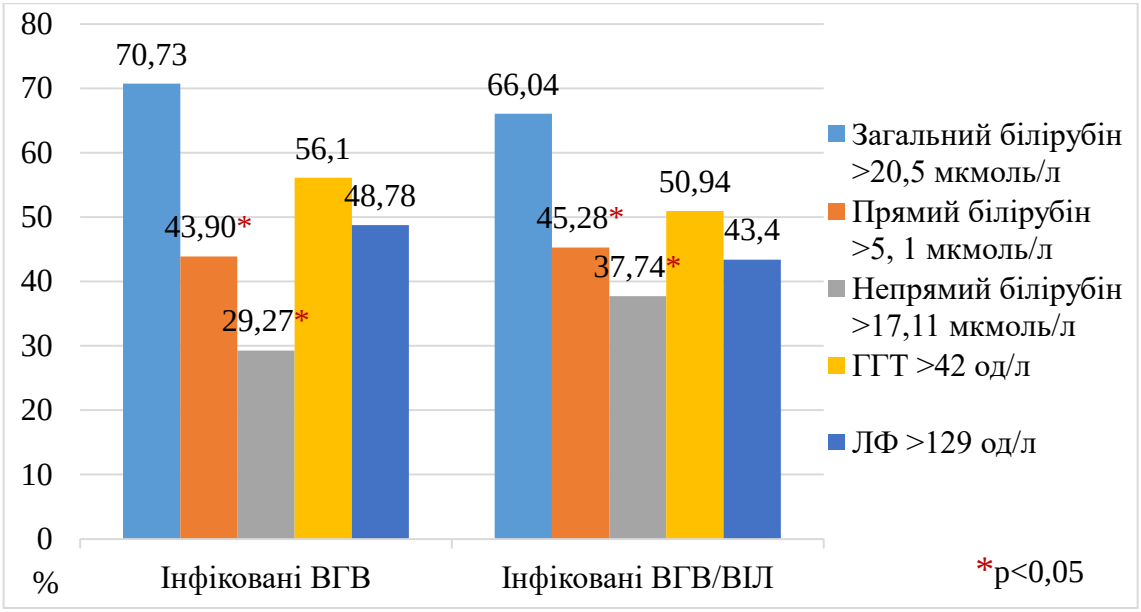

Рис. 4.4 - Частота відхилень від референтного інтервалу контролю показників холестазу у хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ

Нами встановлено достовірне підвищення рівнів всіх показників холестазу у пацієнтів основної групи з коінфекцією ХГВ/ВІЛ, а також у хворих групи співставлення з моноінфекцією ВГВ. Так, рівень загального білірубіну у сироватці крові у хворих з коінфекцією був в 1,93 рази вищим в порівнянні з групою здорових (табл. 4.3). Цей же показник в групі пацієнтів з моноінфекцією ХГВ був вищим в 1,79 рази. Рівень прямого білірубіну в сироватці крові був підвищений в 3,31 та 2,91 рази відповідно. У пацієнтів з коінфекцією ХГВ/ВІЛ рівень непрямого білірубіну був в 1,65 рази вищим ніж у здорових осіб, а серед пацієнтів з моноінфекцією ця різниця складала 1,36 рази. Такий показник синдрому холестазу як рівень ГГТ в сироватці крові у коінфікованих пацієнтів був в 1,60 рази вищим, ніж у здорових. В групі моноінфікованих хворих рівень ГГТ був в 1,45 рази вищий. Рівень ЛФ в сироватці крові в групі пацієнтів з коінфекцією ХГВ/ВІЛ був в 2,15 рази вищим, ніж у здорових. В хворих з моноінфекцією ХГВ цей показник був в 2,10 рази вищий.

Проведений нами аналіз показав наявність достовірно вищих рівнів всіх показників синдрому холестазу у хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ в порівнянні з хворими з моноінфекцією ХГВ (табл.4.3). Так, рівень загального білірубіну та ЛФ в сироватці крові у пацієтів основної групи з коінфекцією ХГВ/ВІЛ був в 1,11 рази вищим ніж в групі співставлення пацієнтів з ХГВ. Рівні прямого та непрямого білірубіну в сироватці крові було вищим в 1,14 та 1,22 рази відповідно. Достовірною також була різниця в рівнях ГГТ в сироватці крові (p=0,045).

Таблиця 4. 3 - Показники синдрому холестазу у хворих з ко-інфекцією ХГВ/ВІЛ

Показники	Здорові особи (n=24)	Хворі ХГВ (n=41)	Хворі ХГВ/ВІЛ (n=53)	$p^1/p^2/p^3$
Загальний білірубін (мкмоль/л)	12,81±0,94	22,96±3,32	24,78±4,03	0,028/0,026/0,046
Прямий білірубін (мкмоль/л)	3,95±1,73	11,48±2,11	13,07±1,96	0,017/0,015/0,044
Непрямий білірубін (мкмоль/л)	8,59±1,37	11,69±1,55	14,22±1,39	0,037/ 0,03/0,041
ГГТ (од/л)	28,33±0,71	41,02±4,17	45,41±5,62	0,034/0,031/0,045
ЛФ (од/л)	69,04±2,48	144,85±16,94	148,76±18,05	0,024/0,023/0,049

Примітки:

1. P^1 – різниця достовірна між групами здорових і хворихХГВ;
2. P^2 - різниця достовірна між групами здорових і хворих ХГВ/ВІЛ;
3. P^3 - різниця достовірна між групами хворих ХГВ/ВІЛ і ХГВ

Пацієнти з коінфекцією ХГВ/ВІЛ в 32,07% мали знижені рівні загального білка в сироватці крові, що було в 1,88 рази більше ніж у хворих з моноінфекцією ХГВ . Різниця в кількості осіб зі зниженим рівнем альбуміну в сироватці крові складала вже 2,06 рази (рис. 4.5).

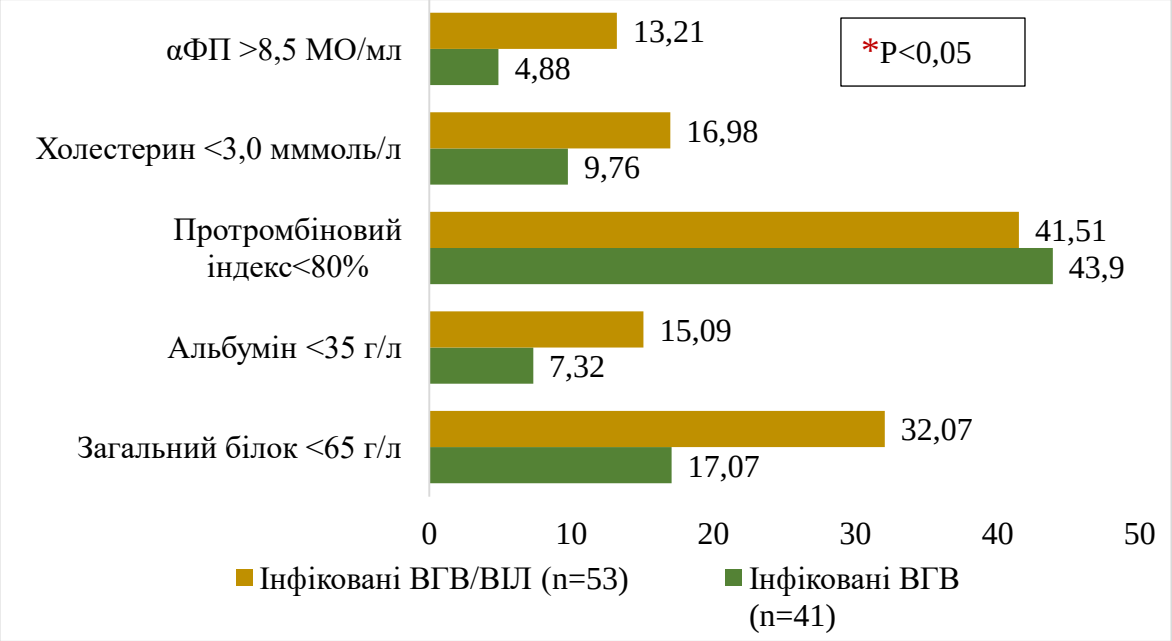

Рис. 4.5 - Частота відхилень від референтного інтервалу контролю показників синдрому печінково-клітинної недостатності у хворих ко-інфекцією ХГВ/ВІЛ

Нами не було виявлено достовірної різниці в рівнях таких показників синдрому печінково-клітинної недостатності, як загальний білок, альбумін та холестерин в сироватці крові, протромбіновий індекс (табл.4.4).

Рівень α-ФП в сироватці крові у хворих основної групи в 2,31 рази перевищував аналогічний показник у здорових осіб.

Таблиця 4. 4 - Показники синдрому печінково-клітинної недостатності у хворих з ко-інфекцією ХГВ/ВІЛ

Показники	Здорові люди (n=24)	хворі ХГВ (n=41)	хворі ХГВ/ВІЛ (n=53)	$p^1/p^2/p^3$
Загальний білок (г/л)	77,58±0,72	73,15±1,12	71,88±1,46	0,053/0,054/0,05
Альбумін (г/л)	46,35±0,47	41,59±1,41	40,27±1,74	0,056/0,058/0,052
Протромбіновий індекс (%)	86,91±0,38	77,64±2,57	76,41±2,91	0,056/0,057/0,051
Холестерин (ммоль/л)	4,63±0,07	4,28±0,46	4,06±0,62	0,054/0,057/0,053
α-ФП (МО/мл)	1,44±0,06	3,53±2,61	3,33±2,46	0,02/0,022/0,053

Примітки:

1. P^1 – різниця достовірна між групами здорових і хворих ХГВ;
2. P^2 - різниця достовірна між групами здорових і хворих ХГВ/ВІЛ;
3. P^3 - різниця достовірна між групами хворих ХГВ і ХГВ/ВІЛ

Резюме. Аналіз отриманих нами результатів вказує на більш тяжкий перебіг ХГВ у хворих з наявністю коінфекції ВІЛ. У 77,36% хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ виявлялися ознаки астеновегетативного та диспептичного синдромів, що було в 1,62-7,73 рази частіше, ніж у пацієнтів з моноінфекцією ХГВ.

У пацієнтів з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції в 1,13 рази частіше спостерігалась гепатомегалія та в 1,46 рази частіше – спленомегалія, ніж у хворих з моноінфекцією ХГВ.

Рівні АЛТ на АСТ в сироватці крові у пацієнтів Замбії з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції були в 1,14 та 1,20 рази вищими, ніж аналогічні показники у хворих з моноінфекцією ХГВ та перебували у обернено пропорційній залежності від рівня CD4. В групі пацієнтів з 2 клінічною стадією ВІЛ-інфекції рівні АЛТ та АСТ в сироватці крові були в 1,52 та 1,29 рази вищими, ніж у пацієнтів з

менш вираженою імуносупресією

Всі показники синдрому холестазу були підвищені в групі хворих з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції. Рівні загального білірубіну та ЛФ в сироватці крові у пацієнтів з коінфекцією ХГВ/ВІЛ були в 1,11 рази вищим ніж у пацієнтів з ХГВ, а прямого та непрямого білірубіну в сироватці крові - в 1,14 та 1,22 рази відповідно. Фіксувалася також достовірно вищий рівень ГГТ в сироватці крові ($p=0,045$).

Наявність ВІЛ-інфекції не мала вираженого впливу на показники печінково-клітинної недостатності у хворих на ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції.

Спостерігалося зростання в 2,31 рази рівня α-ФП в сироватці крові у хворих на ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції.

Основні результати розділу опубліковані у нраступних працях [5]:

1. Мороз, Л. В., Соні, С. Ч., Чічірельо-Константинович, К. Д., Куляс, С. М. (2019). Клініко-лабораторні особливості перебігу ВГВ у ВІЛ-інфікованих хворих Замбії. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 2 (23). 257-262.

РОЗДІЛ 5
ОЦІНКА ВМІСТУ IL-17 ТА IP-10 В СИРОВАТЦІ КРОВІ ХВОРИХ НА КОІНФЕКЦІЮ В ЯКОСТІ ПРЕДИКТОРІВ ФОРМУВАННЯ ФІБРОЗУ ПЕЧІНКИ У ХВОРИХ НА КОІНФЕКЦІЮ HBV/HIV

HBV-інфекція залишається однією з основних проблем сучасної гепатології, особливо в країнах суб-сахарної Африки. Фіброзоутворення є основним процесом при хронічних гепатитах зокрема при HBV.

На формування та темпи прогресування фібротичних змін в печінці при HBV-інфекції доведено вплив багатьох факторів як вірусу так і господаря, наявність супутньої патології. В країнах суб-сахарної Африки основною коінфекцією у хворих на HBV є HIV. В роботах останніх років встановлено, що у хворих з коінфекцією HBV/HIV прогресування фібротичних змін в печінці відбувається в п’ять разів швидше, ніж при моноінфекції.

Процес регуляції фіброгенезу при HBV-індукованому фіброзі печінки вивчений недостатньо.

Незважаючи на те, що багато повідомлень про механізми фіброзу вказують на зв'язок між прозапальними медіаторами, такими як IL-17, і пошкодженням печінки та фіброзом, в одній роботі було виявлено зворотню кореляцію між показниками IL-17 та IP-10 у хворих на HIV-інфекцію. Роботи по впливу хемокіну IP-10 на процеси фіброзоутворення, зокрема при HBV-інфекції взагалі відсутні.

Згідно отриманих нами даних, вміст IP-10 в сироватці крові в групі обстежених хворих з конфекцією ХГВ/ВІЛ був в 8,35 рази вищим ніж серед здорових осіб, та в 1,49 рази вищим, ніж в групі порівняння з моноінфекцією ХГВ (рис.5.1). Серед пацієнтів з ХГВ вміст IP-10 в сироватці крові був в 5,59 рази вищим в порівнянні зі здоровими мешканцями Західної провінції Замбії.

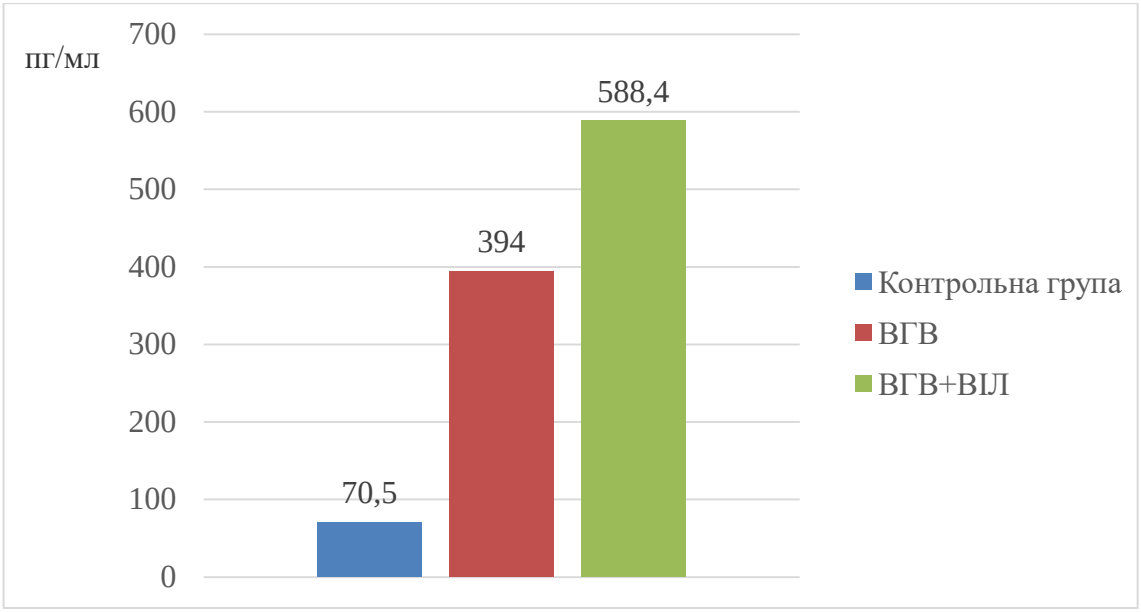

Рис. 5.1 - Вміст IP-10 в сироватці крові хворих HBV, HBV/HIV ($p<0,05$)

Подібна картина спостерігалася і відносно змін вмісту IL-17A в сироватці крові. Даний показник у хворих на конфекцію ХГВ/ВІЛ був в 6,43 рази вищим порівняно зі здоровими особами Замбії та в 1,55 рази вищим ніж серед пацієнтів з ХГВ-моноінфекцією. Різниця в вмісті IL-17A в сироватці крові в групі пацієнтів з ХГВ була в 4,14 рази в порівнянні з групою здорових осіб (рис. 5.2).

Нами не було виявлено достовірної різниці в вмісті IL-17A та IP-10 в сироватці крові в залежності від статі серед коінфікованих пацієнтів. Різниця за віком була лише на рівні тенденції ($p=0,07$).

Проведений аналіз змін рівня IL-17A в сироватці крові при різних ступенях активності запального процесу (цитолізу) показав достовірне зростання вмісту IL-17A в сироватці крові відповідно збільшенню активності запального процесу ($p<0,05$). Так, у хворих на конфекцію ХГВ/ВІЛ з високим ступенем цитолізу вміст даного показника був в 6,42 рази вищим, ніж у хворих з низькою активністю (табл.5.1). Серед пацієнтів з середнім ступенем активності рівень IL-17A в сироватці крові був в 4,14 рази вищим в порівнянні з хворими з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції з низкою активністю запального процесу.

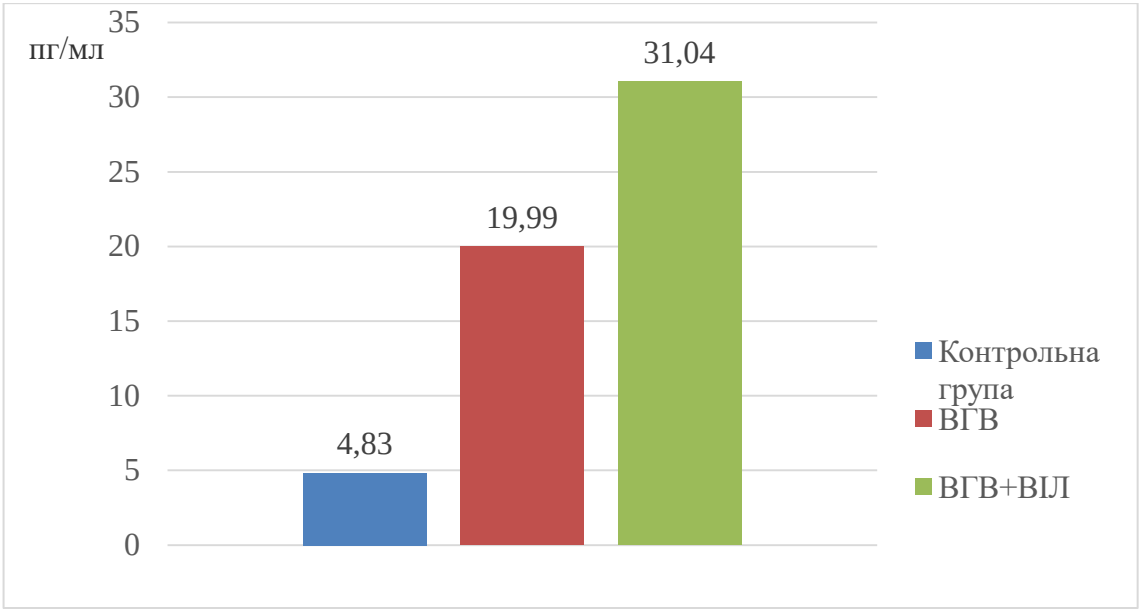

Рис. 5.2 - Вміст IL-17A в сироватці крові ворих HBV, HBV/HIV ($p<0,05$)

Рівень IL-17A в сироватці крові у коінфікованих при всіх ступенях запального процесу (цитолізу) був достовірно вищим в порівнянні з моноінфікованими ХГВ. Так, в групі коінфікованих пацієнтів з високим ступенем ця різниця була в 1,38 рази, а при низький - 1,21 рази (табл.5.1).

Таблиця 5.1 - Рівень IL-17A, IP-10 у HBV/HIV-інфікованих донорів Замбії з різним ступенем активності запального процесу

Показники активності запального процесу	IL-17A (пг/мл)	IP-10 (пг/мл)
Низька	4,83±0,53	70,50±3,74
Середня	19,99±1,34	394,12±25,41
Висока	31,04±2,05	588,46±25,59

Примітка: * $p<0,05$ між групами порівняння

Подібна картина спостерігалася стосовно рівня IP-10 в сироватці крові, що також зростав відповідно підвищенню ступеня активності запального процесу у коінфікованих ХГВ/ВІЛ пацієнтів. За наявності високого ступеня рівень IP-10 в сироватці крові хворих з конфекцією ХГВ/ВІЛ був в 8,35 рази вищим в порівнянні з низькою активністю. При середньому ступені активності запального процесу різниця була меншою, в 5,59 рази (табл.5.1).

Рівень IP-10 в сироватці крові у пацієнтів з коінфекцією ХГВ/ВІЛ був достовірно вищим незалежно від ступеня активності запального процесу. Так, при високому ступені активності запального процесу рівнь IP-10 в сироватці крові в групі пацієнтів з коінфекцією ХГВ/ВІЛ був в 1,13 рази вищим в порівнянні з моноінфекцією ХГВ. При низькому ступені активності запального процесу різниця була в 1,17 рази вища серед коінфікованих пацієнтів (табл.5.2).

Таблиця 5.2 - Рівень IL-17A, IP-10 у HBV-інфікованих донорів Замбії з різним ступенем активності запального процесу

Показники активності запального процесу	IL-17A (пг/мл)	IP-10 (пг/мл)
Низька	4,0±0,22	64,4±2,28
Середня	18,3±2,21,34	227,15±21,14
Висока	22,45±1,08	521,19±21,28
p	0,007	0,006

Нами було зафіксовано зміну досліджуваних показників у пацієнтів з коінфекцією ХГВ/ВІЛ при різних рівнях CD4. Рівень IL-17A в сироватці крові у коінфікованих пацієнтів з 1 стадією ВІЛ-інфекції був в 1,55 рази нижчим, ніж з 2 стадією (табл.5.3). Спостерігалось зниження і рівня IP-10 в

сироватці крові у пацієнтів з коінфекцією ХГВ/ВІЛ при 1 стадії ВІЛ-інфекції в 1,72 рази.

Таблиця 5.3 - Середні значення IL-17A, IP-10 серед HBV/HIV-інфікованих донорів Замбії в залежності від стадії ВІЛ-інфекції

Рівень CD4	IL-17A, пг/мл	IP-10, пг/мл
1 стадія (≥500 клітин/мкл) (n=33)	25,37±1,39	431,16±22,48
2 стадія (200-499 клітин/мкл) (n=6)	39,13±1,88	742,91±26,21
3 стадія, СНІД (<200 клітин/мкл) (n=1)	53,2	916,3
Невстановлена стадія (рівень CD4 невідомий) (n=13)	31,49±2,36	647,85±35,82

Примітка: * $p<0,05$ між групами порівняння

Проведений нами аналіз вмісту IL-17A в сироватці крові хворих основної групи (коінфекція ХГВ/ВІЛ) при різних ступенях фіброзу печінки встановив, що в групі хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ при наявності морфологічних ознак початкового та помірного фіброзу (F1 - F2) вміст даного показника був в 5,08 рази вищий, ніж серед здорових (табл.5.4). У пацієнтів з вираженим фіброзом та цирозом печінки (F3 - F4) ця різниця сягала вже 7,77 рази. Нами встановлено зростання вмісту IL-17A в сироватці крові відповідно вираженості фібротичних змін в печінці в 1,53 рази при F3 - F4 в порівнянні з F1 - F2.

В групі пацієнтів з моноінфекцією ХГВ також було зафіксовано підвищений вміст IL-17A в сироватці крові з 3,94 разів при фібротичних змінах, що відповідали ступеню фіброзу F1 - F2, до 7,14 разів у пацієнтів з вираженим фіброзом та цирозом печінки (F3 - F4) порівняно зі здоровими людьми. Рівень даного показника у пацієнтів зі стадією F3 - F4 зростав в 1,35

рази порівняно з групою хворих з фіброзом печінки, що відповідали стадії F1 - F2 (табл.5.4).

За нашими даним зростання IL-17A корелювало зі збільшенням ступеня фіброзу ($p<0,05$; $r=0,52$).

Таблиця 5.4 - Вміст Il-17A у пацієнтів з HBV і HBV/HIV з різним ступенем фіброзу

Рівень фіброзу	HBV-моноінфіковані	HBV/HIV-коінфіковані
F1-2	17,02±1,33 пг/мл	24,53±1,70 пг/мл
F3-4	22,97±1,34 пг/мл	37,54±2,30 пг/мл

Примітка: * $p<0,05$ між групами порівняння

Нами були встановлені достовірно вищий вміст IL-17A в сироватці крові хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ незалежно від ступеню фіброзу печінки. Так, в групі хворих з коінфекцією та фібротичними змінами F1 - F2, вміст IL-17A в сироватці крові був в 1,44 рази вищим ніж в групі хворих з моноінфекцією ХГВ та аналогічними змінами в тканині печінки. За наявності ступеню фіброзу F3 - F4 вміст IL-17A в сироватці крові хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ був в 1,63 рази вищим порівняно з моно інфекцією ХГВ.

Виявлено, що вміст IP-10 в сироватці крові також змінювався в групах пацієнтів з різним ступенем фіброзу, незалежно від наявності у них моно- або коінфекції. Так, у пацієнтів з коінфекцією ХГВ/ВІЛ за наявністю фібротичних змін в тканині печінки, що відповідали F1 - F2, вміст IP-10 в сироватці крові був в 6,00 разів вищим порівняно зі здоровими особами (табл.5.5). В групі хворих з фіброзом F3 - F4 вміст IP-10 в сироватці крові перевищував даний показник у здорових в 10,69 рази. Було також встановлено, що вміст IP-10 в сироватці крові у пацієнтів з коінфекцією ХГВ/ВІЛ при фібротичних змінах F3- F4 був в 1,78 рази вищим ніж при F1-F2.

Таблиця 5.5 - Вміст IP-10 у пацієнтів з HBV і HBV/HIV з різним ступенем фіброзу

Рівень фіброзу	HBV-моноінфіковані	HBV/HIV-коінфіковані
F1-2	277,6±20,85 пг/мл	423,2±25,35 пг/мл
F3-4	503,2±29,94) пг/мл	753,6±25,82 пг/мл

Примітка: * $p<0,05$ між групами порівняння

Незначно повільнішим було зростання вмісту IP-10 в сироватці крові у хворих з моноінфекцією ХГВ, що було в 3,94 та 7,14 рази вищим за наявності фібротичних змін тканини печінки F1- F2 та F3- F4, відповідно. Різниця між вмістом IP-10 в сироватці крові за наявності ступенів фіброзу F3-F4 та F1- F2 скадала 1,35 рази.

Нами було виявлено, що вміст IP-10 в сироватці крові у хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ також був вищим ніж у пацієнтів з моно інфекцією ХГВ незалежно від стадії фіброзу печінки. За наявності фіброзу F1 - F2 різниця була в 1,52 рази, фіброзу F3 - F4 в 1,50 рази, відповідно.

Був встановлений сильний кореляційний зв'язок між вмістом IP-10 в сироватці крові та ступенем фіброзу печінки ($p<0,05$; $r=0,60$)

Проведений нами ROC-аналіз та побудова відповідної кривої показав діагностичну ефективність визначення вмісту IL-17A в сироватці крові хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ для виділення групи хворих з вираженим фіброзом та цирозом печінки (F3 - F4) від пацієнтів з початковими стадіями фіброзу печінки (F1 - F2). Чутливість методу (вірогідність вірно позитивного результату) склала 88,6%, а специфічність (вірогідність хибно-позитивного результату) була дещо меншою-59,8 %. Площа під кривою (AUC) становила 0,769, що вказувало на прийнятну достовірність проведеного діагностичного тесту ($p=0,004$) (рис. 5.3).

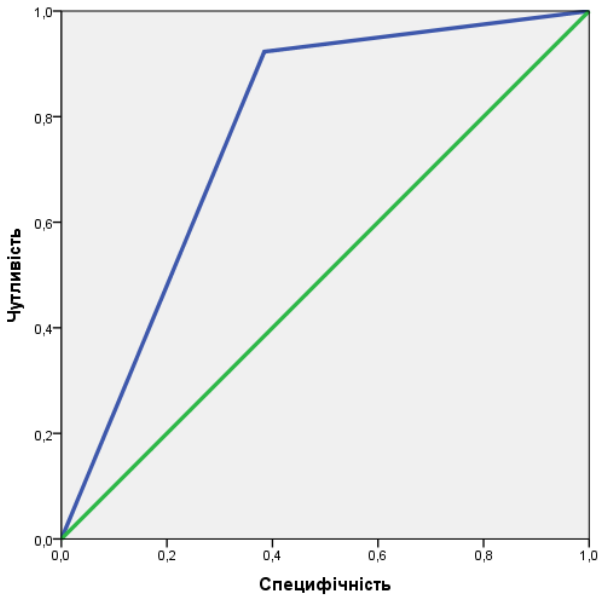

Рис. 5.3 - ROC-крива: визначення рівня IL-17A в сироватці крові хворих з ХГВ/ВІЛ

Кращу діагностичну ефективність при побудові ROC-кривої показало визначення вмісту IP-10 в сироватці крові хворих з конфекцією ХГВ/ВІЛ. Чутливість методу склала 97,1%, вищою була і специфічність дослідження - 66,9%. Площа під кривою (AUC) становила 0,821, що вказувало на хорошу (високу) діагностичну інформативність даного методу (p=0,001) (рис. 5.4).

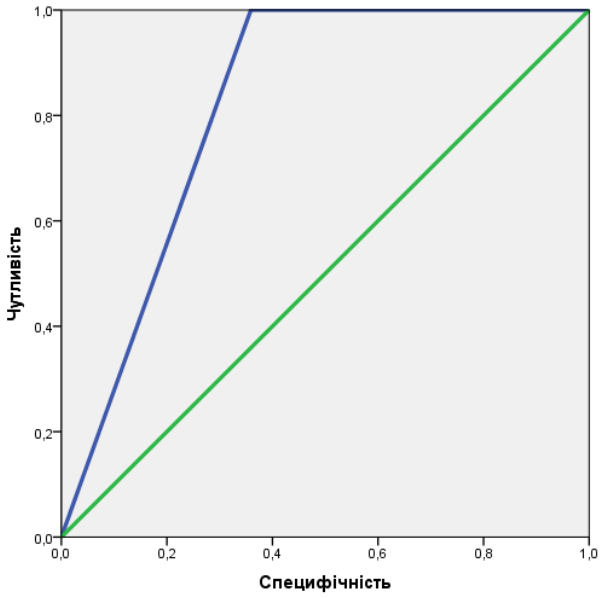

Рис. 5.4 - ROC-крива: визначення рівня IP-10 в сироватці крові хворих з ХГВ/ВІЛ

Проведений нами паралельно ROC-аналіз та побудова відповідної кривої показав нижчу діагностичну ефективність визначення вмісту IL-17A в сироватці крові хворих з моноінфекцією ХГВ. Чутливість методу склала 78,2%, а специфічність 61,5 %. Площа під кривою (AUC) склала 0,658, що вказувало на слабку діагностичну інформативність даного методу(p=0,007) (рис. 5.5).

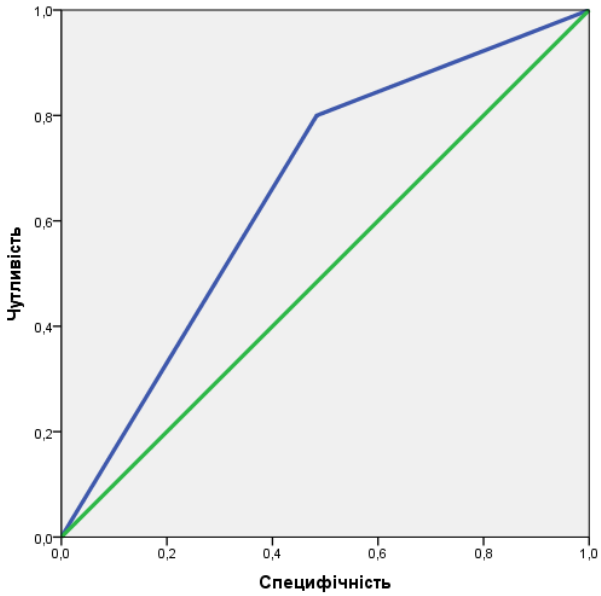

Рис. 5.5 - ROC-крива: визначення вмісту IL-17A в сироватці крові хворих з ХГВ

Візначення вмісту IP10 в сироватці крові хворих з моноінфекцією при побудові відповідної ROC-кривої показало кращі віагностичні можливості. Чутливість даного методу у хворих з ХГВ становила 98,9%, а специфічність 67,4 %. Площа під кривою (AUC) склала 0.790, що вказувало на вказувало на прийнятну інформативність проведеного діагностичного тесту (p=0,006) (рис. 5.6).

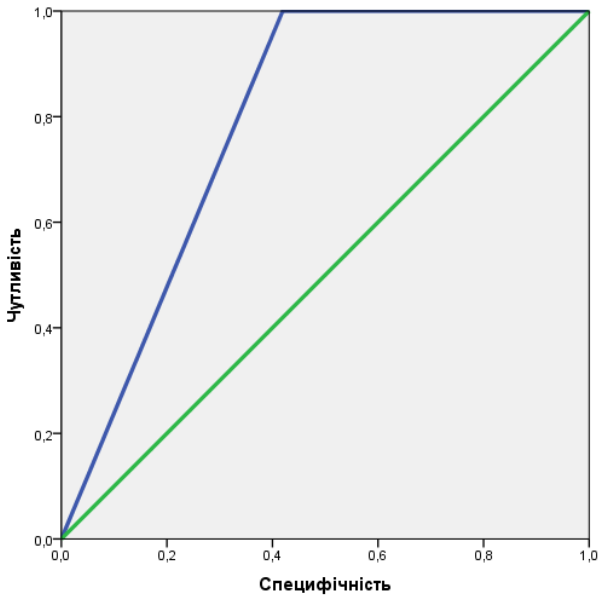

Рис. 5.6 - ROC-крива: визначення вмісту IP-10 в сироватці крові хворих з ХГВ

Проведений нами аналіз відношення шансів встановив ризик розвитку фіброзу печінки F3 - F4 при підвищенні вмісту IL-17A вище 19.0 пг/мл (OR=2,373; 95% CI 1.201 – 4.689) та вмісту IP-10 вище 400.0 пг/мл (OR=4.089; 95% CI 1.851 – 9.031).

При наявності супутньої ВІЛ-інфекції, підвищенні рівня IL-17A вище 19.0 пг/мл шанси на розвиток фіброзу печінки F1 - F2 у пацієнтів з ХГВ були (OR=2,683; 95% CI 1.339 – 5,375), за наявності супутньої ВІЛ-інфекції та підвищення рівня IP-10 вище 400.0 пг/мл (OR=2,,311; 95% CI 1,384- 3,860).

В нашому дослідженні шанси на розвиток ступеню фіброзу F3 - F4 у хворих на ХГВ були вищі за наявності супутньої ВІЛ-інфекції та підвищення рівня IL-17A вище 24.0 пг/мл (OR=3,052; 95% CI 1.280 – 7,275) та за наявності супутньої HIV-інфекції та підвищення рівня IP-10 вище 600.0 пг/мл (OR=5,283; 95% CI 2,085- 13,386).

Резюме. За підсумком проведених досліджень встановлено, що у хворих основної групи та групи порівняння спостерігалося підвищення вмісту IL-17A та IP-10 в сироватці крові. При цьому вміст даних показників в сироватці

крові був достовірно вищим у хворих на ХГВ на тли ВІЛ-інфекції, IL-17A в 1,55 рази, а IP-10 в 1,49 рази.

Вміст показників, що досліджувалися показав достовірне зростання вмісту IL-17A та IP-10 в сироватці крові відповідно збільшенню активності запального процесу ($p<0,05$). У пацієнтів з ХГВ та тлі ВІЛ-інфекції рівні IL-17A та IP-10 в сироватці крові були вищими незалежно від активності запального процесу в1,21-1,38 та 1,13-1,17 рази, відповідно.

Відбувалося зростання вмісту IL-17A та IP-10 в сироватці крові відповідно стадії фіброзу печінки як у пацієнтів з коінфекцією ХГВ/ВІЛ та і у пацієнтів групи співставлення з моноінфекцією ХГВ, з достовірно вищими рівнями даних показників в сироватці крові при всіх стадічях фіброзу печінки у коінфікованих. За наявності ступеню фіброзу F3 - F4 вміст IL-17A та IP-10 в сироватці крові хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ був в 1,63 та 1,50 рази вищим порівняно з моно інфекцією ХГВ.

Проведений нами ROC-аналіз встановив високу діагностичну інформативність визначення рівня IP-10 в сироватці крові хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ для виділення групи хворих з вираженим фіброзом та цирозом печінки (F3 - F4) (чутливість 97,1 %, специфічність 66,9 %. AUC, $p=0,001$). Прийнятна інформативність була встановлена при проведенні визначення рівня IL-17A в сироватці крові хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ (чутливість 88,6%, специфічність 59,8 %, AUC - 0,769, $p=0,004$).

Отримані нами дані вказують на істотну роль (вплив) в механізмах фіброзоутворення при HBV-моноінфекції та HBV/HIV-коінфекції імунорегуляторного цитокину IL-17A та хемокіну IP-10. Встановлено ризик розвитку фіброзу печінки F3 - F4 при підвищенні вмісту IL-17A вище 19.0 (OR=2,373; 95% CI 1.201 – 4.689) та вмісту IP-10 вище 400.0 в (OR=4.089; 95% CI 1.851 – 9.031).

В нашому дослідженні шанси на розвиток ступеню фіброзу 3-4 за наявності супутньої HIV-інфекції та підвищення рівня IL-17A вище 24.0

(OR=3,052; 95% CI 1.280 – 7,275) та за наявності супутньої HIV-інфекції та підвищення рівня IP-10 вище 600.0 (OR=5,283; 95% CI 2,085- 13,386).

Результати наших досліджень статистично достовірно доводять роль IL-17A та IP-10 в якості маркерів фібротичних змін в печінці, що впливають на процес прогресування захворювання в більшій мірі у пацієнтів з коінфекцією HBV/HIV.

Основні результати розділу опубліковані у наступних працях [4, 90]:

1. Мороз, Л. В., Соні, С. Ч., Бевз, Т. І. Чічірельо-Константинович, К. Д. (2019). Рівні IL-17A, IP-10 в сироватці крові у пацієнтів з HBV-інфекцією та HBV/HIV-коінфекцією у західній провінції Замбії. *Гепатологія,* 2 (44). 6–11.*)*.

2. Moroz, L., Soni, S., Dudnyk, V., & Zaichko, N. (2019). Predictive value of serum IL-17A and IP-10 for evaluation of liver fibrosis progression in patients with HBV/HIV co-infection. *Georgian medical news*, (290), 73-77

РОЗДІЛ 6
МОРФОЛОГІЧНІОСОБЛИВОСТІ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ У ХВОРИХ НА ХГВ З КОІНФЕКЦІЄЮ ВІЛ

Щороку у світі від HBV-інфекції помирає близько 686 тис. людей, що зазвичай є наслідком запально-некротичної деструкції гепатоцитів з подальшим фіброзуванням та печінковою недостатністю. Розвиток гепато-целюлярної карциноми у таких пацієнтів підвищує ризик фатальних наслідків.

Наразі особливої актуальності набуває вивчення особливостей впливу коінфекцій на архітектоніку печінки. Попри значну кількість робіт, присвячених цій темі, питання патогістологічної перебудови гепатоцитів під дією гепатотропних вірусів, аутоімунного пошкодження та печінково-клітинної недостатності за рахунок імуносупресії залишається дискусійним.

Наявність коінфекції HBV/HIV значно ускладнює перебіг обох захворювань. HIV-інфекція посилює реплікацію вірусу HBV-інфекції, одночасно інгібуючи сероконверсію (продукування ab-HBeAg), що призводить до швидкого фіброзоутворення в печінці. HBV/HIV-коінфікування призводить до втрати імунної толерантності [5, 6]. У пацієнтів з коінфекцією ХГВ/ВІЛ активність некрозапального процесу в печінці виражена в цілому слабше, але більш висока реплікація ВГВ призводить до більш важкого фіброзу печінки, підвищеного (в 4,2 рази) ризику цирозу і більш швидкому розвитку термінальній стадії ураження печінки.

В наслідокі проведених гістологічних досліджень нами встановлено, що в печінці хворих на ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції визначалися неспецифічні патоморфологічні ушкодження гепатоцитів, що проявлялися поліморфізмом ядер гепатоцитів з наявністю пікнотичних і вакуолізованих ядер, білковою (гідропічною) дистрофією гепатоцитів в поєднанні з дрібно- та крупновакуольною жировою дистрофією гепатоцитів, наявністю в дольках

тілець Каунсільмена і цитокаріолізису гепатоцитів, неспецифічною вогнищевою мононуклеарною інфільтрацією портальних трактів, відсутністю нейтрофілів та плазмоцитів у внутрішньодолькових і портальних клітинних інфільтратах. Характерно, що перипортальні імуннoклітинні інфільтрати різної глибини та інтенсивності формували так звані «ступінчасті некрози», а портально-центролобулярнопортальні клітинні інфільтрати утворювали «мостоподібні» некрози, що спричиняли розвиток фіброза портальних трактів, центролобулярних вен та портально-долькових фіброзних септ.

На вірусне пошкодження печінки вказувала наявність великих гепатоцитів з блідо-еозинофільною дрібнозернистою цитоплазмою і ядром, зміщеним до цитоплазматичної мембрани і відокремленим від цитоплазми світлим обідком - «матово-склоподібні» гепатоцити в препаратах, забарвлених гематоксиліном та еозином (рис. 6.1). За даними гістохімічних досліджень печінки «матово-склоподібні» гепатоцити відображали нерівномірність вмісту глікогену і РНК в різних печінкових клітинах.

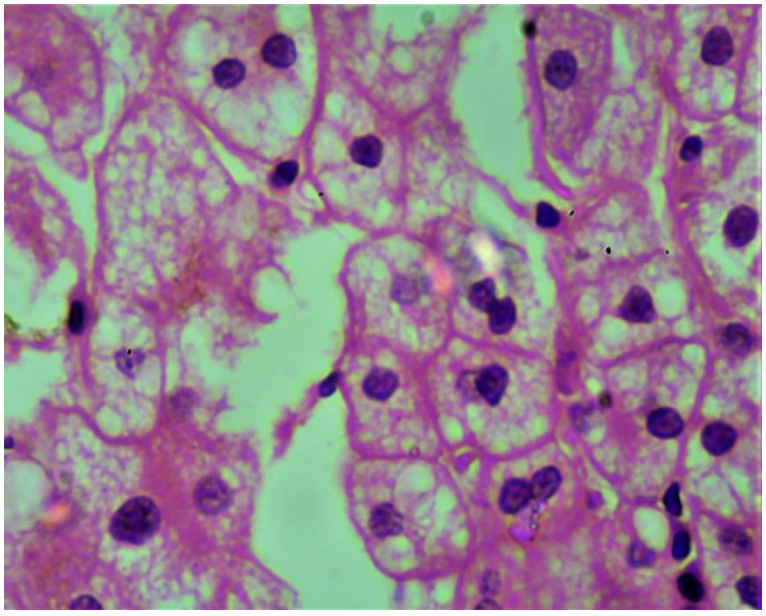

Рис. 6.1 - Гідропічна дистрофія гепатоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.х400

Імуногістохімічною патогномонічною ознакою гепатоцитів була ІГХ-реакція з Hep Par 1 (Clone OCH1E5.2.10), що проявлялася цитоплазматичною експресією в вигляді гранул та в зоні мітохондріальних мембран (рис. 6.2).

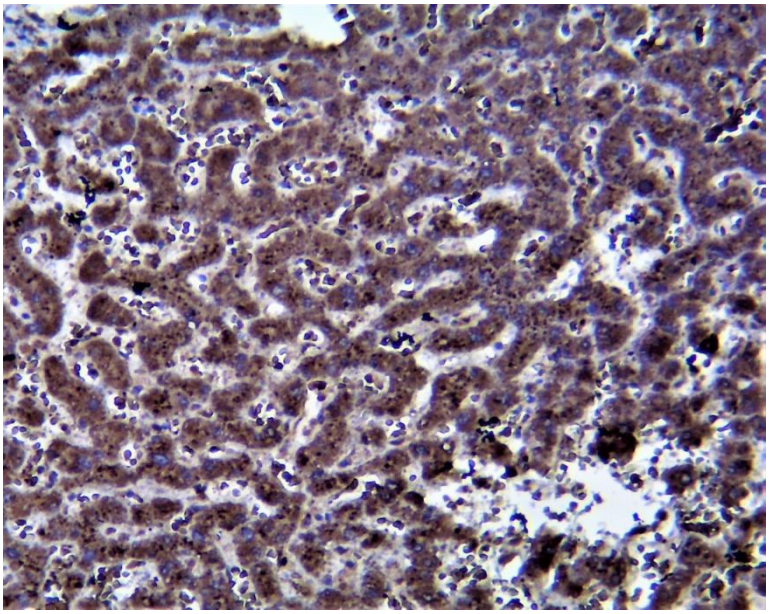

Рис. 6.2 - Цитоплазматична експресія Hep Par 1 в вигляді гранул та в зоні мітохондріальних мембран. Hep Par 1 (Clone OCH1E5.2.10). Зб.:х100

За даними гістологічних досліджень нами виявлено наявність гепатоцитів в стані апоптозу, що були зменшені в розмірах та мали округло-овальну форму, еозинофільну цитоплазму і гіперхромне ядро. При мікроскопії навколо апоптотичного гепатоцита спостерігалася оптично прозора циркулярна щілина, що являла собою відростки макрофагів (рис. 6.3).

У хворих на ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції в біоптатах печінки виявлялися дрібні вогнища некрозу певних ділянок печінкових часточок, в котрих некроз охоплював не тільки гепатоцити зі стеатозом, але також клітини перисинусоїдальних просторів. Такі гепатоцити мали класичні морфологічні ознаки некрозу клітин: лізис цитоплазми, пікноз ядра, та їх дезінтеграція.

Крім того в печінці хворих на ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції виявлялася жирова дистрофія з скупченням середніх і дрібних ліпідних везикул без наявності цитоплазматичної мембрани (рис. 6.4).

Проведені гістологічні дослідження показали, що в цитоплазмі гепатоцитів визначалися оптично порожні вакуолі різного розміру (від 4 до 40 мікрометрів в діаметрі) при забарвленні парафінових зрізів гематоксиліном та еозином, при цьому ядро гепатоцита зміщується на периферію.

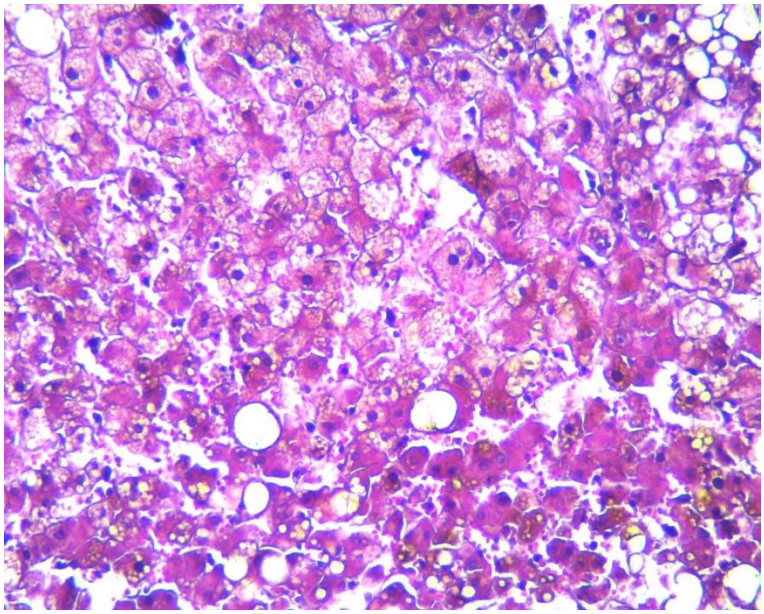

Рис. 6.3 - Гепатоцити в стані апоптозу, гіаліново-краплинна, дрібно-, та великовакуольна жирова дистрофія гепатоцитів, внутрішньоклітинний холестаз. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.х200

Нами були виконані паралельні патогістологічні, гістохімічні та імуногістохімічні (ІГХ) дослідження, що довели, що однією з ознак, що характеризують ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції була присутність запальноклітинного лімфоцитарного інфільтрату різного ступеню інтенсивності та фіброзу печінки, що в кінцевих стадіях призводило до формування цирозу печінки (рис. 6.5).

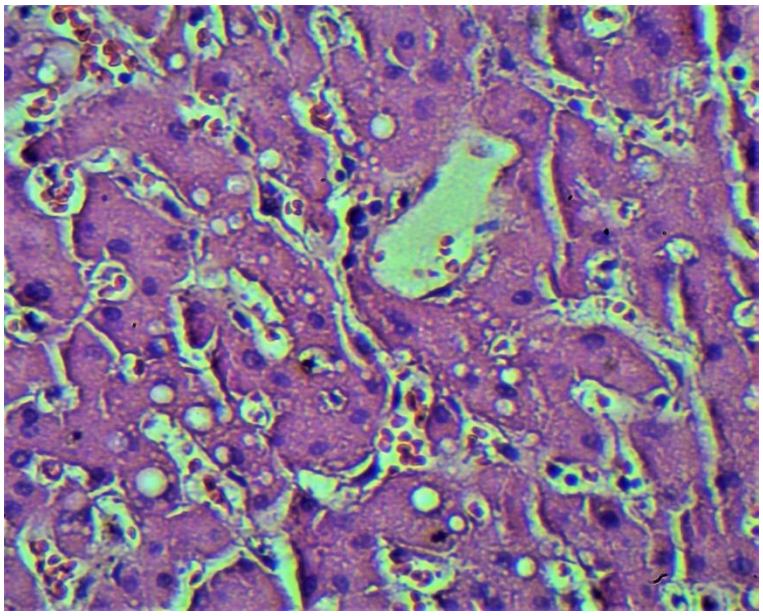

Рис. 6.4 - Дрібновакуольна жирова дистрофія гепатоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.х200

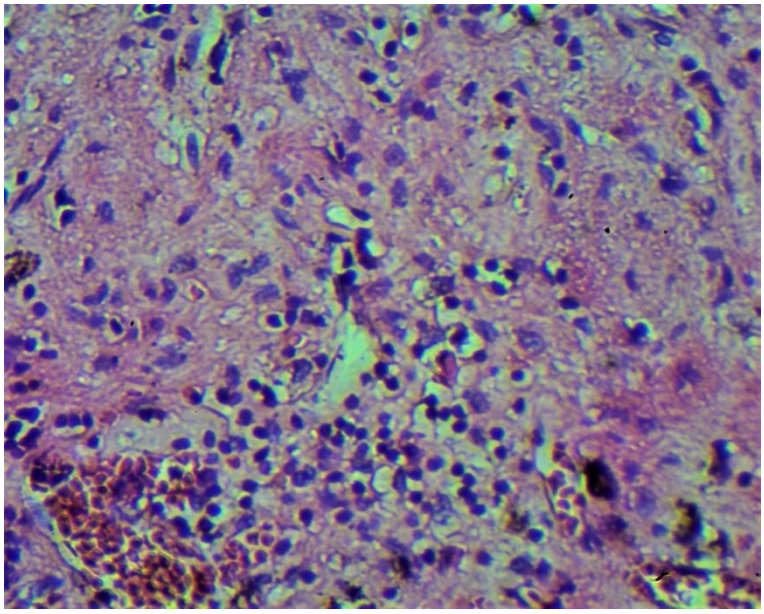

Рис. 6.5 - Запальноклітинний мононуклеарний інфільтрат в перипортальній зоні, активація фібробластів при фіброзі печінки. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.х200

Встановлено, що у хворих на ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції в парафінових зрізах біоптатів печінки, забарвлених методом ван-Гізон, переважав

портально-перисинусоїдальний фіброз печінки. Тонкі прошарки сполучної тканини охоплювали окремі гепатоцити та групи печінкових клітин (рис.6.6).

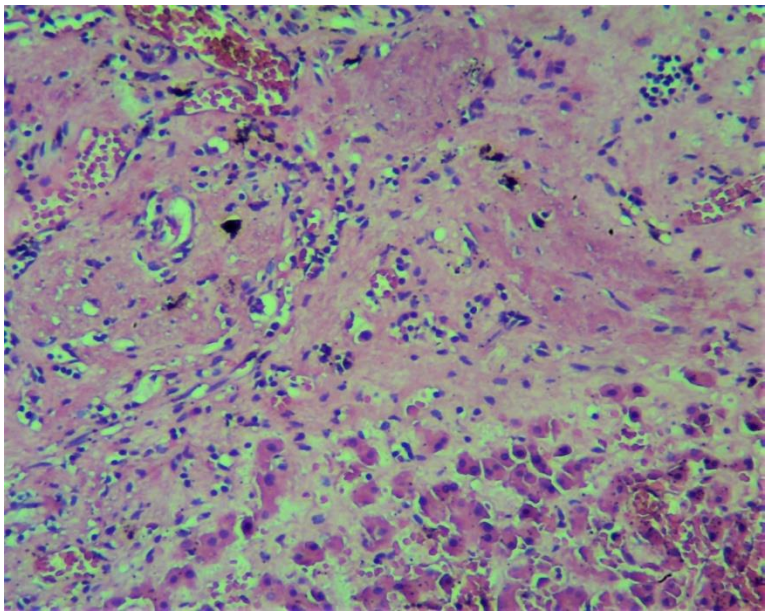

Рис. 6.6 - Сформовані порто-портальні септи при тяжкому F3 портально-Z1-3 перисинусоїдальному фіброзі при ХВГ В. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. х100.

Також виявлявся локальний (ізольований) перибіліарний фіброз, при якому визначався значний циркулярний фіброз навколо дрібних жовчних проток, локалізованих між печінковими дольками, що не входили до складу портальних тріад (рис. 6.7).

В перипортальних зонах портальних трактів печінки на тлі зменшення імунних клітин спостерігалося одночасне формування портально-перисинусоїдальних сполучнотканинних септ та розширення перипортального фіброзу (рис. 6.8 та 6.9).

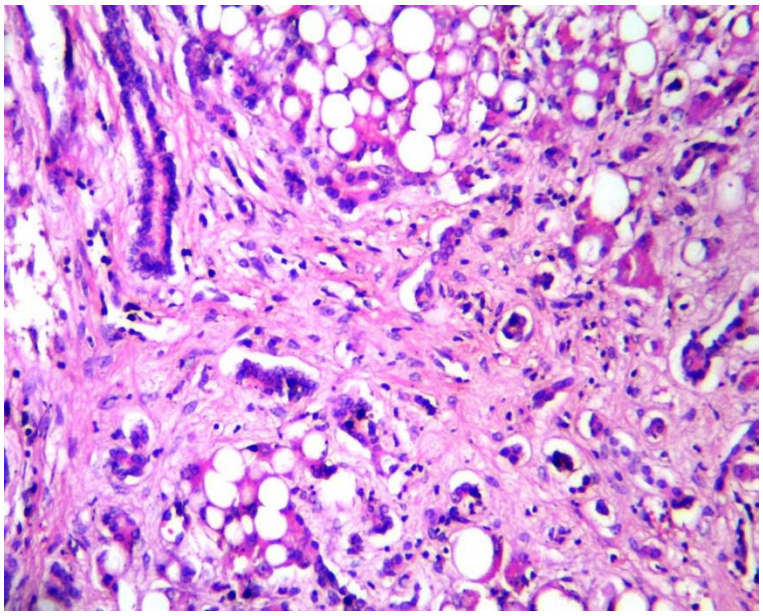

Рис. 6.7 - Локальний перибіліарний фіброз печінки. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.:х100

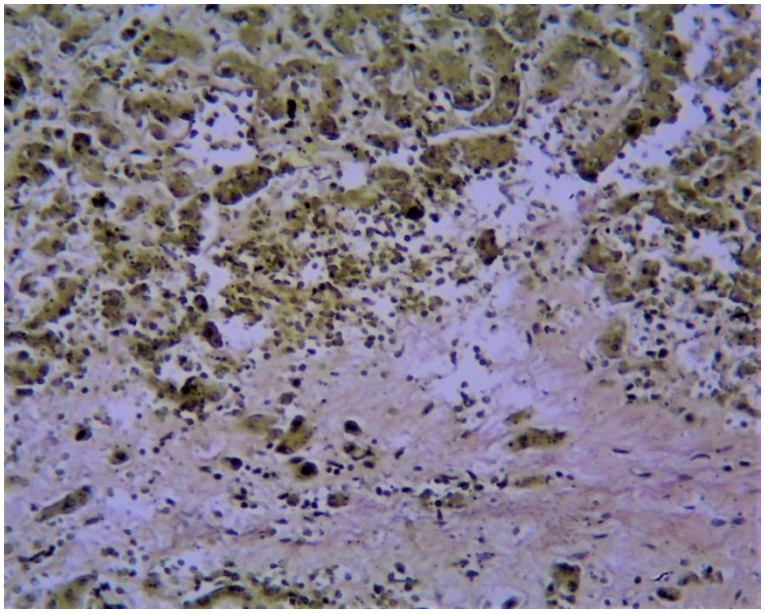

Рис. 6.8 - Утворення порто-центральних сполучнотканинних септ. Забарвлення за ван-Гізон. Зб.: х100

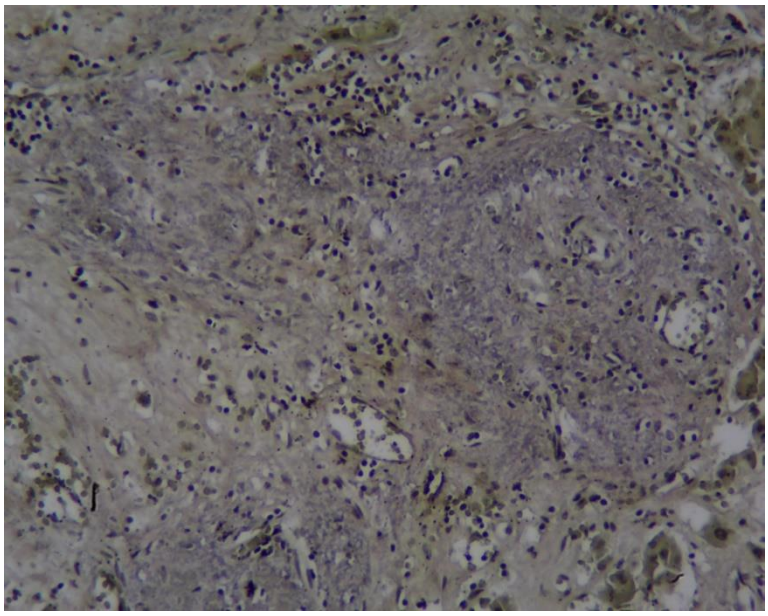

Рис. 6.9 - Розростання грубоволокнистої сполучної тканини при вираженому F3 фіброзі. Забарвлення за ван-Гізон. Зб.:х100.

До прогресування фіброзу портальних трактів і їх фіброзного потовщення призводила подальша фіброзна трансформація поширених імуноклітинних перипортальних некрозів. За наявності в гепатобіоптатах хворих з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції поширених подовжених перипортальних імуноклітинних інфільтратів, при ретельному аналізі гістологічних препаратів печінки, забарвлених гематоксиліном та еозином і за ван-Гізон, у одного і того ж хворого можно було виявити поступове зменшення імунних клітин в перипортальних зонах і їх заміщення фіброзною тканиною. Фіброзну трансформацію перипортальних імуноклітинних інфільтратів у таких хворих підтверджували гістохімічні та ІГХ дослідження препаратів печінки, забарвлених за ван-Гізон, а також з застосуванням моноклональних антитіл Anti-Vimentin (Clone V9), CD34 (Clone QBEnd 10). При цьому спостерігалася активація клітин Купфера та перехід їх в фібробласти з наступним утворенням сполучнотканинних волокон. Виконані ІГХ дослідження показали, що активовані перисинусоїдальні міофібробласти міняли типовий для зірчастих клітин регуляторів ретиноїдів на фенотип

фіброгенних клітин. В цитоплазмі перисинусоїдальних фібробластів визначається експресія віментину та СД 34 (рис. 6.10 та 6.11).

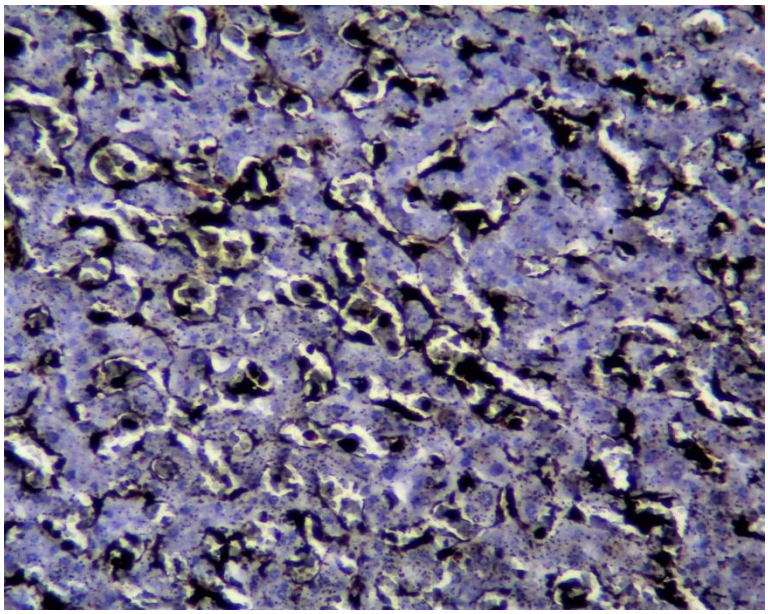

Рис 6.10 - Експресія віментину в перисинусоїдальних просторах при тяжкому F3 перисинусоїдально-перицелюлярному фіброзі при ХВГ В. Мо а Hu Vimentin Clone V9. Зб.:х100

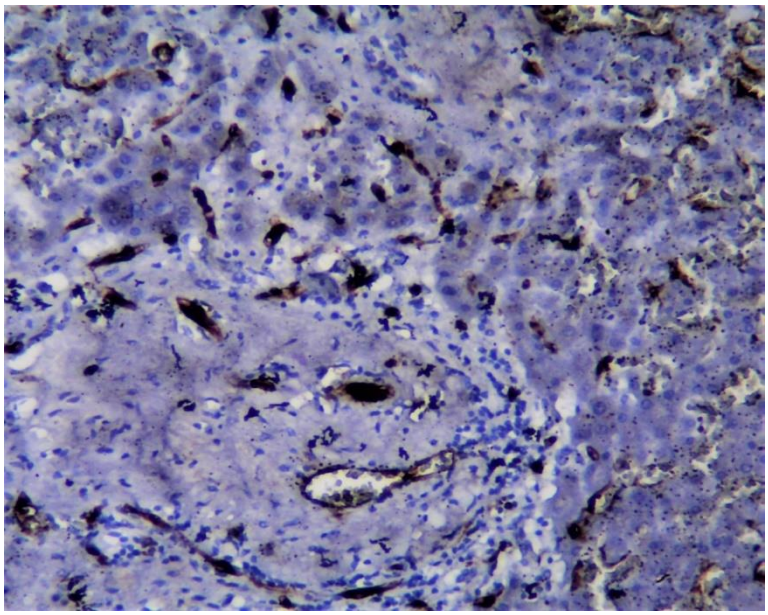

Рис. 6.11 - Експресія в клітинах реактивних дуктул і ланцюжків СД34 в активній фазі дуктулярної реакції печінки. Мо а-Hu CD34 Clone QBEnd 10. Зб.:х100

Описані патоморфологічні особливості характеризували активацію репаративної дуктулярної реакції в печінці при ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції (рис. 6.12), що призводило в подальшому до утворення нових псевдочасточок та розвитку цирозу печінки (рис. 6.13).

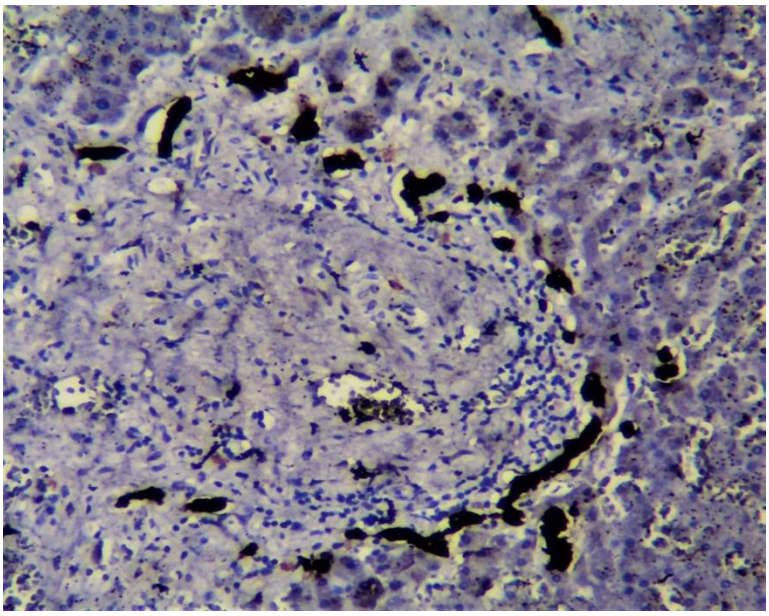

Рис. 6.12 - Експресія СК7 (Clone OV-TL 12/30) в псевдочасточках в активній фазі дуктулярної реакції при цирозі печінки. Mo a-Hu Cytokeratin7 (Clone OV-TL 12/30) Зб.:х100

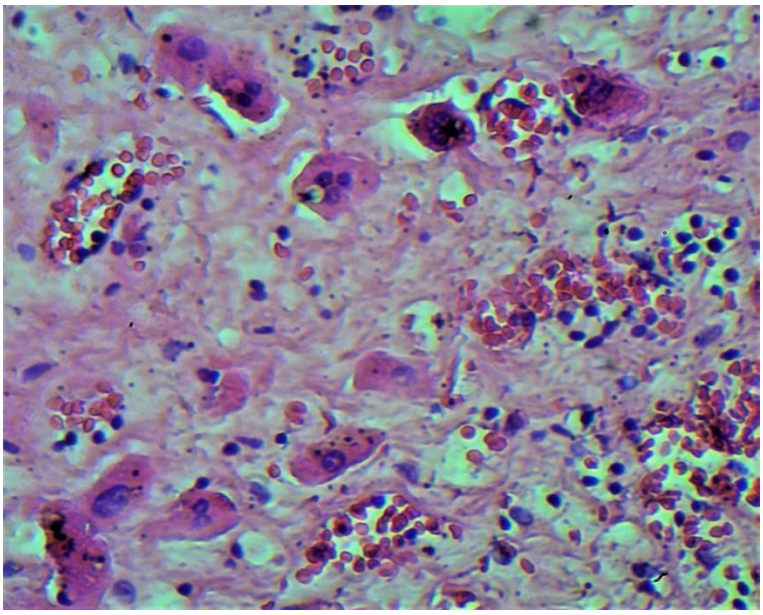

Рис. 6.13 - Двох- та трьохядерні гепатоцити при цирозі печінки. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.х200

Проведені патогістологічні дослідження довели, що при цирозі печінки на тлі зростаючого дефіциту гепатоцитів, максимальної виразності досягали компенсаторно-пристосовчі процеси в функціонуючих гепатоцитах. При мікроскопії зрізів печінки, забарвлених гематоксиліном та еозином в хибних часточках визначалася значна кількість двохядерних гепатоцитів та гепатоцитів, що містили в крупному ядрі одне, або два-три крупних ядерця (рис.6.14).

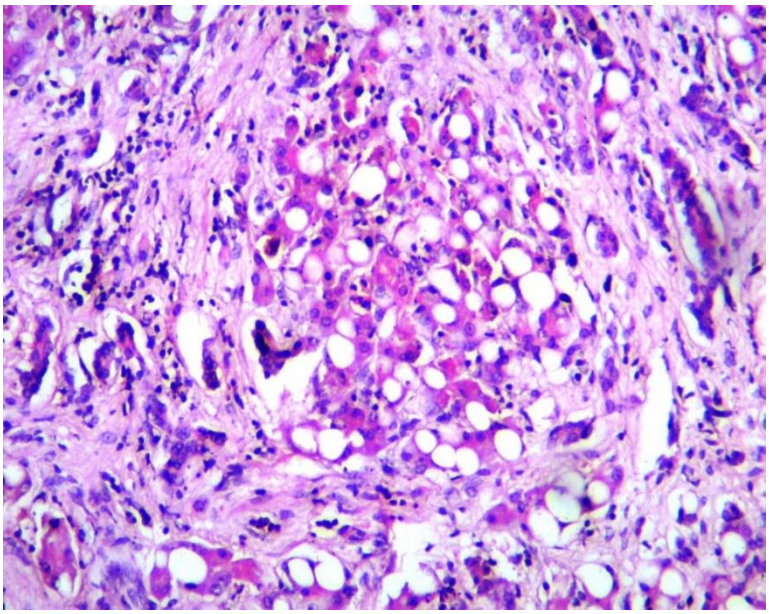

Рис. 6.14 - Сформована несправжня часточка при цирозі печінки Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.: х100

Резюме. Аналіз гепатобіоптатів, отриманих від хворих встановив, що морфологічна картина в тканині печінці при ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції характеризувалася неспецифічними патоморфологічними ушкодженнями гепатоцитів та наявністю перипортальних імунноклітинних інфільтратів різної глибини та інтенсивності.

В тканині печінки виявлялися патогномонічні ознаки HBV-інфекції у вигляді «матово-склоподібні» гепатоцити, що відображали нерівномірність вмісту глікогену і РНК в різних печінкових клітинах та присутність запальноклітинного лімфоцитарного інфільтрату різного ступеню та фіброзу

печінки. Присутність останніх в кінцевих стадіях призводила до формування цирозу печінки.

Імуногістохімічною патогномонічною ознакою гепатоцитів пошкодження була ІГХ-реакція з Hep Par 1 (Clone OCH1E5.2.10), що проявлялася цитоплазматичною експресією в вигляді гранул та в зоні мітохондріальних мембран.

Активовані перисинусоїдальні міофібробласти міняли типовий для зірчастих клітин регуляторів ретиноїдів на фенотип фіброгенних клітин. В цитоплазмі перисинусоїдальних фібробластів визначається експресія віментину та СД 34.

В тканині печінки при ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції відбувалася активація репаративної дуктулярної реакції, що призводило в подальшому до утворення нових псевдочасточок та розвитку цирозу печінки.

За наявності циротичних змін в печінці на тлі зростаючого дефіциту гепатоцитів, максимальної виразності досягали компенсаторно-пристосовчі процеси в функціонуючих гепатоцитах.

Основні результати роздщілу опубліовані в наступних приацях [111]:

1. Soni, S. C., Moroz, L. V., Havrylyuk, A. O., & Chichirelo-Konstantynovych, K. D. (2019). Morphological features of liver effect in patients with chronic hepatitis B with HIV-coinfection. *Journal of Education, Health and Sport*, *9*(6), 503-513.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

HBV-інфекція залишається важким захворюванням, що має масштабне соціально-економічне значення у зв'язку із значною кількістю інфікованих, розвитком важких ускладнень, високою летальністю та нерівномірністю доступності лікування. У світі нараховується близько 400 млн людей, які інфіковані вірусом гепатиту В.

HBV, HCV і HIV-інфекції мають спільні шляхи передачі і подібні за ендемічною розповсюдженістю, що збільшує ймовірність виникнення поєднаної інфекції у пацієнтів [1, 2].

За даними міжнародних досліджень в світі на даний час нараховується більше 170 млн носіїв вірусу HCV, і також близько 35 млн. людей мають ВІЛ-інфекцію, серед них близько 70% - жителі країн Африки. Згідно даних ВООЗ країни Південної Африки належать до середньоендемічних за ВГВ регіонів, де поверхневий антиген ВГВ (HBsAg) визначається у ≈ 7 % населення. В той же час в південноафриканському регіоні спостерігається низький рівень поширеності ВГС - ≈ 2% населення [2-4]. Однак, ці цифри не можна вважати повністю достовірними, так як по багатьом окремим країнам суб-Сахарної Африки статистичні данні по розповсюдженості цих вірусних інфекцій неповні, або взагалі відсутні по деяких регіонах.

Щороку у світі від гепатиту В помирає близько 686 тис. людей, що зазвичай є наслідком запально-некротичної деструкції гепатоцитів з подальшим фіброзуванням та печінковою недостатністю. Розвиток гепато-целюлярної карциноми у таких пацієнтів підвищує ризик фатальних подій.

Наразі особливої актуальності набуває вивчення особливостей впливу коінфекцій на архітектоніку печінки. Попри значну кількість робіт, присвячених цій темі, питання патогістологічної перебудови гепатоцитів під дією гепатотропних вірусів, аутоімунного пошкодження та печінково-клітинної недостатності за рахунок імуносупресії залишається дискусійним.

Нами було проведено ретроспективне дослідження зразків донорської крові в період з січня 2014 року по грудень 2017 року в Lewanika General Hospital Західної провінції Замбії.

Протягом 2014-2017 років було проведено обстеження 22355 донорів, які зверталися до лікарні Lewanika General Hospital в Західній провінції Замбії. Обстежені респонденти були практично здорові особи віком від 12 до 65 років (середній вік 32,12±8,47 роки). Серед донорів переважали жінки – (59,25% - 13245 осіб), чоловіків було 40,75% (9110 осіб).

Резюме. Згідно отриманих нами даних, встановлений високий рівень поширенності HBV–інфекції серед донорів західної провінції Замбії. Маркери HBV–інфекції – (наявність в сироватці крові HBsAg) були виявлені у 6,7% донорів, що дає можливість віднести західну провінцію Замбії до регіонів зі несприятливою ситуацією стосовно HBV-інфекції та підтверджує чисельні літературні дані стосовно епідеміологічної ситуаціїї в країнах суб-сахарної Африки, в яких поширеність даної інфекції може сягати 8% місцевого населення [5]. Це обумовлено низкою факторів, серед яких основними є низька санітарна культура суспільства [2, 8], незахищений секс [7, 9], відсутність чіткої програми специфічної профілактики [5], виявлення та лікування HBV-інфекції [1, 8].

При порівнянні поширеності HBV-інфекції іншими вірусними захворюваннями з аналогічними шляхами передачі (HIV- та HCV-інфекції), було виявлено, що поширеність HIV-інфекції складала 7,8%, та була в 1,16 рази вищею в порівнянні з HBV-інфекцією. Поширенність HCV—інфекції у донорів була незначною складала у 1,7% та була в 3,94 рази нижчою ніж HBV-інфекції.

Проведений нами аналіз динаміки поширеності HBV-інфеції в західній провінції Замбіїї встановив, що за останні п’ять кількість інфікованих донорів зменшилась в 1,65 рази. Однак, поширеність інших вірусних інфекцій, з груп порівняння, показала кращу негативну динаміку на рівні

тенденції. Спостерігалось зниження показників інфікованості донорів HIV-інфекцією в 2,10 рази, та HCV-інфекцією у 3,13 рази. Ймовірно, чинниками даної регресії стала зміна діагностично-лікувального підходу, а саме рання скринінгова діагностика та збільшення відсотка охоплення специфічною противірусною (насамперед антиретровірусною) терапією інфікованих.

За територіальною поширеністю найвища частка донорів, інфікованих на HBV, HIV, HCV-інфекції визначалась у регіоні Limulunga ($p<0,05$). В цьому регіоні поширеність HBV-інфекції склала 7,06%, що було достовірно вище за розповсюдженість HCV-інфекції (1,72%) та HBV/HIV коінфекції (0,23%) ($p=0,001$). Подібна картина спостерігалася і в інших районах провінції.

Серед донорів- чоловіків найвищий відосток інфікованості припадав на HBV-інфекцію (8,86%), незначно менший на HIV-інфекцію (7,95%), а серед жінок – на HIV-інфекцію. (7,69%) ($p<0,005$). Чоловіків, у яких в сироватці крові був виявлений HBsAg, було в 3,82 рази більше, ніж HCV-інфікованих. Зафіксовано також достовірно вищий в 1,11 разів відсоток HBV-інфікованих в порівнянні з HIV-інфікованими серед чоловіків. Серед донорів жіночої статі кількість HBV-інфікованих була в 4,22 рази більшою, ніж HCV-інфікованих.

Серед обстежених донорів, переважали особи вікової категорії 20-49 років ($p=0,025$). У вікових групах 40-49 років ($p=0,0005$) та 50-59 років ($p=0,005$) серед донорів переважали особи, в чиїх зразках крові було знайдено позитивні маркери HBV-інфекції.

Нами встановлено, що серед HBV-інфікованих донорів більше половини (59,3%) складали особи в віці старше 39 років, яких було в 2,08 рази більше ніж серед HIV-інфікованих.

Отримані дані також виствітлюють низьку HBV-інфікованість серед осіб вікової категорії до 20 років (2,29%), що пояснюється впровадженням обов'язкової вакцинації новонароджених [10], починаючи з 1998 р. В той же

час, широка розповсюдженість HBV-інфекції серед осіб 30-49-річного віку свідчить про низький соціальний статус населення цього вікового проміжку та популяризації вживання наркотичних засобів ін'єкційним шляхом.

Аналіз отриманих нами результатів вказує на більш тяжкий перебіг ХГВ у хворих з наявністю коінфекції ВІЛ. У 77,36% хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ виявлялися ознаки астено-вегетативного та диспептичного синдромів, що було в 1,62-7,73 рази частіше, ніж у пацієнтів з моноінфекцією ХГВ.

Ці дані підтверджують існуючу думку, що висока поширеність ВІЛ-інфекції серед населення суб-сахарної Африки [13]) може асоціюватися з високим ризиком ускладненого коморбідного перебігу при поєднанні з ХГВ і негативно моделювати показники смертності у даному регіоні [11]. Однак, в ряді робіт останніх років, автори доводять, що рівень імуносупресії у ВІЛ-інфікованих, як вважалось раніше [4, 14], не може слугувати предиктором важкості коморбідного перебігу ХГВ/ВІЛ.

Інструментальні дослідження виявили, що у пацієнтів з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції в 1,13 рази частіше спостерігалась гепатомегалія та в 1,46 рази частіше – спленомегалія, ніж у хворих з моноінфекцією ХГВ. Це співпадало з об’єктивними даними, що були отримані нами при пальпації хворих.

Рівні таких провідних показників сидрому цитолізу, як АЛТ на АСТ в сироватці крові у пацієнтів Замбії з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції були в 1,14 та 1,20 рази вищими, ніж аналогічні показники у хворих з моно інфекцією ХГВ та перебували у обернено пропорційній залежності від рівня CD4. В групі пацієнтів з 2 клінічною стадією ВІЛ-інфекції рівні АЛТ та АСТ були в 1,52 та 1,29 рази вищими, ніж у пацієнтів з менш вираженою імуносупресією

Всі показники синдрому холестазу були підвищені в групі хворих з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції. Рівні загального білірубіну та ЛФ в сироватці крові у пацієнтів з коінфекцією ХГВ/ВІЛ були в 1,11 рази вищим ніж у пацієнтів з ХГВ, а прямого та непрямого білірубіну в сироватці крові - в 1,14 та 1,22 рази

відповідно. Фіксувалася також достовірно вищий рівень ГГТ в сироватці крові (p=0,045).

Наявність ВІЛ-інфекції не мала вираженого впливу на показники печінково-клітинної недостатності у хворих на ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції.

Спостерігалося зростання в 2,31 рази рівня αФП в сироватці крові у хворих на ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції, що вказувало на можливість швидкого формування не тільки ЦП, але й ГЦК у даної групи хворих.

Аналіз гепатобіоптатів, отриманих від хворих встановив, що морфологічна картина в тканині печінці при ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції характеризувалася неспецифічними патоморфологічними ушкодженнями гепатоцитів та наявністю перипортальних імунноклітинних інфільтратів різної глибини та інтенсивності.

В тканині печінки виявлялися патогномонічні ознаки HBV – інфекції у вигляді «матово-склоподібні» гепатоцити, що відображали нерівномірність вмісту глікогену і РНК в різних печінкових клітинах, гідро пічної дистрофії гепатоцитів та присутність запальноклітинного лімфоцитарного інфільтрату різного ступеню та фіброзу печінки. Присутність останніх в кінцевих стадіях призводила до формування цирозу печінки.

Отримані дані співпадають з результатами чисельних морфологічних досліджень, що вказують на наявність в тканині печінки при ХГВ дистрофії та некрозу гепатоцитів, запальної клітинної інфільтрації і фібротичних змін в часточках і портальних трактах. В багатьох роботах доведено, що гідро пічна дистрофія гепатоцитів є однією з характерних ознак ушкодження паренхими печінки при HBV-інфекціїї, при чьому крайня її форма - балонна дистрофія зустрічається рідше. В нашому дослідженні гідропічна дистрфія гепатоцитів зустрічалася в поєднанні з дрібно– та крупновакуольною жировою дистрофією гепатоцитів, що вказувала на більш глибоке ушкодження тканини печінки при конфекції ХГВ/ВІЛ.

Пошкодження і деструкція гепатоцитів обумовлені дією імунних механізмів за участю Т-лімфоцитів, продукти розпаду клітин, в свою чергу, захоплюються макрофагами. Тому осередки некрозу паренхіми, як правило, містять лімфоїдної-макрофагальний інфільтрат (некро-запальна активність).

Імуногістохімічною патогномонічною ознакою пошкодження пошкодження в нашому дослідженні була ІГХ-реакція з HepPar1 (Clone OCH1E5.2.10), що проявлялася цитоплазматичною експресією в вигляді гранул та в зоні мітохондріальних мембран.

Активовані перисинусоїдальні міофібробласти міняли типовий для зірчастих клітин регуляторів ретиноїдів на фенотип фіброгенних клітин. В цитоплазмі перисинусоїдальних фібробластів визначається експресія віментину та CD34.

В тканині печінки при ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції відбувалася активація репаративної дуктулярної реакції, що призводило в подальшому до утворення нових псевдочасточок та розвитку цирозу печінки.

Відомо, що наявність коінфекції ХГВ/ВІЛ значно ускладнює перебіг обох захворювань. HIV-інфекція посилює реплікацію вірусу HBV-інфекції, одночасно інгібуючи сероконверсію (продукування ab-HBeAg), що призводить до швидкого фіброзоутворення в печінці. ХГВ/ВІЛ-коінфікування призводить до втрати імунної толерантності [5, 6]. У пацієнтів з коінфекцією ХГВ/ВІЛ активність некрозапального процесу в печінці виражена в цілому слабше, але більш висока реплікація ВГВ призводить до більш важкого фіброзу печінки, підвищеного (в 4,2 рази) ризику цирозу і більш швидкому розвитку термінальній стадії ураження печінки.

За нашими даними при наявності циротичних змін в печінці на тлі зростаючого дефіциту гепатоцитів, максимальної виразності досягали компенсаторно-пристосовчі процеси в функціонуючих гепатоцитах.

За підсумком проведених досліджень встановлено, що у хворих основної групи з ХГВ на тли ВІЛ-інфекції та групи порівняння з ХГВ спостерігалося

підвищення рівня IL-17A та IP-10 в сироватці крові в 6,43 і 4,14 та 8,35 і 5,59 рази, відповідно, в порівнянні зі здоровими особами. При цьому вміст даних показників в сироватці крові був достовірно вищим у хворих на ХГВ на тли ВІЛ-інфекції, IL-17A в 1,55 рази, а IP-10 в 1,49 рази.

Вміст показників, що досліджувалися показав достовірне зростання вмісту IL-17A та IP-10 в сироватці крові відповідно збільшенню активності запального процесу ($p<0,05$). Так, рівень IL-17A в сироватці крові у хворих з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції з середньою активністю запального процесу був в 4,14 рази вищим в порівнянні з хворими з низкою активністю. Серед хворих з високим ступенем активності запального процесу вміст даного показника був вже в 6,42 рази вищим.

У пацієнтів з ХГВ та тлі ВІЛ-інфекції рівні IL-17A та IP-10 в сироватці крові були вищими незалежно від активності запального процесу в 1,21-1,38 та 1,13-1,17 рази, відповідно.

Відбувалося зростання вмісту IL-17A та IP-10 в сироватці крові відповідно стадії фіброзу печінки як у пацієнтів з коінфекцією ХГВ/ВІЛ та і у пацієнтів групи співставлення з моноінфекцією ХГВ, з достовірно вищими рівнями даних показників в сироватці крові при всіх стадіях фіброзу печінки у коінфікованих. За нашими даним зростання IL-17A корелювало зі збільшенням ступеня фіброзу ($p<0,05$; $r=0,52$). Був також встановлений сильний кореляційний зв'язок між вмістом IP-10 в сироватці крові та ступенем фіброзу печінки ($p<0,05$; $r=0,60$).

Так, в групі хворих з коінфекцією та фібротичними змінами F1 - F2, вміст IL-17A в сироватці крові був в 1,44 рази вищим ніж в групі хворих з моноінфекцією ХГВ та аналогічними змінами в тканині печінки, зміни в рівні IP-10 в сироватці крові за наявності фіброзу F1 - F2 були в 1,52 рази.

За наявності ступеню фіброзу F3 - F4 вміст IL-17A та IP-10 в сироватці крові хворих з конфекцією ХГВ/ВІЛ був в 1,63 та 1,50 рази вищим порівняно з моноінфекцією ХГВ.

Проведений нами ROC-аналіз встановив високу діагностичну інформативність визначення рівня IP-10 в сироватці крові хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ для виділення групи хворих з вираженим фіброзом та цирозом печінки (F3 - F4) (чутливість 97,1 %, специфічність 66,9 %. AUC, p=0,001). Прийнятна інформативність була встановлена при проведенні визначення рівня IL-17A в сироватці крові хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ (чутливість 88,6%, специфічність 59,8 %, AUC- 0,769, p=0,004).

Отримані нами дані вказують на істотну роль (вплив) в механізмах фіброзоутворення при HBV-моноінфекції та HBV/HIV-коінфекції імунорегуляторного цитокину IL-17A та хемокіну IP-10. Встановлено ризик розвитку фіброзу печінки F3 - F4 при підвищенні вмісту IL-17A вище 19.0 (OR=2,373; 95% CI 1.201 – 4.689) та вмісту IP-10 вище 400.0 в (OR=4.089; 95% CI 1.851 – 9.031). Більшість досліджень вказує, що посилення продукції клітинами крові Th17, Th9, Th2 цитокинів асоційовано з тяжкістю (глибиною) фібротичних змін в тканині печінки не залежно від етіологічного фактору, але більш значне підвищення даних показників спостерігалося при вірусних ураженнях печінки. Для хворих з ЦП класу В+С характерне зростання імунорегуляторних цитокинів IL-4, IL-15, IL-17 та деяких хемокинів. Однак, частина експериментальних досліджень показала що вміст IL-17A посилює печінковий фіброз у мишей, але коекспресія IL-17A та IL-22, навпаки зменшувала фібротичні прояви. Роль та динаміка вмісту хемокіну IP-10 в сироватці крові хворих при різних стадіях фіброзу печінки при HBV-монінфекції не вивчена. Встановлено лише, що фіброз печінки, який вимірюється високим показником APRI або FIB-4, був пов'язаний із збільшенням числа медіаторів запалення, включаючи sICAM, sVCAM та IP-10 у жінок з хронічним гепатитом С (HCV RNA+).

Відомо, що ВІЛ-інфекція прискорює прогресування HBV-індукованого фіброзу печінки. Однак, в ряді робіт було показано, що в HBV-моноінфікованої групи була найбільша частка пацієнтів з посиленим

фіброзом печінки (≥13 кПа), виміряним за допомогою Fibroscan (18%) порівняно з групою коінфікованих, а вищий вміст IL-17A, TGF-α та MMP-9 співвідносився з більш низьким ступенем фіброзу у HIV-інфікованих групах.

В нашому дослідженні шанси на розвиток ступеню фіброзу 3-4 за наявності супутньої HIV-інфекції та підвищення рівня IL-17A вище 24.0 (OR=3,052; 95% CI 1.280 – 7,275) та за наявності супутньої HIV-інфекції та підвищення рівня IP-10 вище 600.0 (OR=5,283; 95% CI 2,085- 13,386).

Результати наших досліджень статистично достовірно доводят роль IL-17A та IP-10 в якості маркерів фібротичних змін в печінці, що впливають на процес прогресування захворювання в більшій мірі у пацієнтів з коінфекцією HBV/ HIV.

ВИСНОВКИ

1. HBV–інфекція набула особливого значення в країнах суб-Сахарної Африки, де вона охоплює 6,1% населення (60 млн мешканців) та стає чинником смерті 136 тис пацієнтів (10% смертності від гепатиту в світі). Враховуючи спільні шляхи передачі, особливу складність становлять пацієнти з одночасним коінфікуванням HBV/HIV-інфекцій. ВІЛ-інфекція прискорює прогресування ВГВ-індукованого фіброзу печінки, особливо якщо клітинний імунітет порушений або за відсутності адекватного лікування HBV-інфекції. Однак, на сьогодні відсутні дані офіційної статистики щодо поширеності HBV-інфекції в окремих країнах суб-Сахарної Африки, недостатньо вивчені клініко-біохімічні особливості перебігу захворювання, морфолочні зміни в печінці при коінфекції, механізми фіброгенезу, пов'язаного з ВГВ, не повністю зрозумілі, не з’ясована роль прозапальних медіаторів та хемокінів IL-17A та IP-10 у фіброзоутворенні в печінці у хворих з коінфекцією HBV/HIV.

2. У 6,7% обстежених донорів західної провінції Замбії виявлялися маркери HBV-інфекції, у 7,8% – HIV-інфекції. За останні п’ять років спостерігалось зниження інфікованості вірусними інфекціями донорів, однак найменша динаміка спостерігалась стосовно HBV-інфеrції, де кількість інфікованих донорів зменшилась лише в 1,65 рази. За територіальною поширеністю найвища частка інфікованих донорів визначалась у регіоні Limulunga західної провінції Замбії ($p<0,05$). HBV-інфікованих донорів-чоловіків було в 3,82 рази більше, ніж HCV- інфікованих та в 1,11 разів більше в порівнянні з HIV-інфікованими. Серед донорів жіночої статі кількість HBV-інфікованих була в 4,22 рази більшою, ніж HCV-інфікованих. Встановлено, що HBV-інфікованих донорів в віці старше 39 років було в 2,08 рази більше, ніж серед HIV-інфікованих.

3. У хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ гепатомегалія, спленомегалія та

ознаки астено-вегетативного і диспептичного синдромів спостерігались в 1,13-7,73 рази частіше, ніж у пацієнтів з моноінфекцією ХГВ. Рівні показників цитолізу в сироватці крові у пацієнтів Замбії з ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції були в 1,14 та 1,20 рази вищими, ніж аналогічні показники у хворих з моноінфекцією ХГВ та перебували у обернено пропорційній залежності від рівня CD4. Подібна закономірність стосувалась показників холестазу. Спостерігалося зростання в 2,31 рази рівня α-ФП в сироватці крові у хворих на ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції.

4. Морфологічна картина в тканині печінки при ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції характеризувалася неспецифічними патоморфологічними ушкодженнями гепатоцитів та наявністю перипортальних імунноклітинних інфільтратів різної глибини та інтенсивності, виявлялися патогномонічні ознаки HBV-інфекції у вигляді «матово-склоподібних» гепатоцитів, що відображали нерівномірність вмісту глікогену і РНК в різних печінкових клітинах та присутність запальноклітинного лімфоцитарного інфільтрату різного ступеню та фіброзу печінки. Присутність останніх в кінцевих стадіях призводила до формування цирозу печінки.

5. Імуногістохімічною патогномонічною ознакою гепатоцитів пошкодження була ІГХ-реакція з Hep Par 1 (Clone OCH1E5.2.10), що проявлялася цитоплазматичною експресією в вигляді гранул в зоні мітохондріальних мембран. Активовані перисинусоїдальні міофібробласти міняли типовий для зірчастих клітин регуляторів ретиноїдів на фенотип фіброгенних клітин. В цитоплазмі перисинусоїдальних фібробластів визначається експресія віментину та СД 34. В тканині печінки при ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції відбувалася активація репаративної дуктулярної реакції, що призводило в подальшому до утворення нових псевдочасточок та розвитку цирозу печінки.

6. У всіх обстежених хворих спостерігалося підвищення вмісту IL-17A та IP-10 в сироватці крові, при цьому їх рівень був достовірно вищим у

хворих на ХГВ на тлі ВІЛ-інфекції (в 1,55 та 1,49 рази, відповідно), при збільшенні активності запального процесу ($p<0,05$) та при зростанні стадії фіброзу печінки.

7. Встановлена висока діагностична інформативність за даними ROC-аналізу визначення рівня IP-10 в сироватці крові хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ для виділення групи хворих з вираженим фіброзом та цирозом печінки (F3-F4) (чутливість 97,1%; специфічність 66,0 %; AUC 0,821, p=0,001). Прийнятна інформативність була встановлена при проведенні визначення рівня IL-17A в сироватці крові хворих з коінфекцією ХГВ/ВІЛ (чутливість 88,6%, специфічність 59,8 %, AUC- 0,769, p=0,004). Доведено ризик розвитку фіброзу печінки F3- F4 при підвищенні вмісту IL-17A вище 19.00 пг/мл (OR=2,373; 95% CI 1.201 – 4.689) та вмісту IP-10 вище 400.00 пг/мл в (OR=4.089; 95% CI 1.851 – 9.031). Шанси на розвиток фіброзу 3-4 ступеня були за наявності супутньої HIV-інфекції та підвищення рівня IL-17A вище 24.00 пг/мл (OR=3,052; 95% CI 1.280 – 7,275) та за наявності супутньої HIV-інфекції та підвищення рівня IP-10 вище 600.00 пг/мл (OR=5,283; 95% CI 2,085- 13,386).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

В практичній діяльності лікарів інфекціоністів, гастроентерологів, гепатологів слід впроваджувати дослідження рівнів IP-10 та IL-17A в сироватці крові для виділення групи хворих з вираженим фіброзом та цирозом печінки (F3 - F4). Висока чутливість (97,1%) та специфічність (66,9%) першого показника та прийнятна чутливість (88,6%) та специфічність (59,8%) другого дозволяє вважати їх неінвазивними маркерами встановлення важких фібротичних змін в тканині печінки. У хворих на ХГВ на тлі ВІЛ –інфекції рівень IP-10 вище 600.0 пг/мл та рівень IL-17A в сироватці крові вище 24.00 пг/мл свідчить про наявність фіброзу печінки F3 - F4.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Андросова, О. С. (2015). Морфологічні особливості ураження печінки у ВІЛ-інфікованих хворих на тлі коінфікування гепатотропними вірусами та прийому високоактивної антиретровірусної терапії. *Вісник морфології*, (21,№ 1), 135-139.
2. ВІЛ-інфекція в Україні. Інформаційний бюллетень (2014). 40, 3-13.
3. Мороз, Л. В., Соні, С. Ч. (2018). Поширеність HIV, HBV, HCV інфекцій серед здорових донорів західної провінції Замбії. Гепатологія, 4 (42). 38–44.
4. Мороз, Л. В., Соні, С. Ч., Бевз, Т. І. Чічірельо-Константинович, К. Д. (2019). Рівні IL-17A, IP-10 в сироватці крові у пацієнтів з HBV-інфекцією та HBV/HIV-коінфекцією у західній провінції Замбії. Гепатологія, 2 (44). 6–11.
5. Мороз, Л. В., Соні, С. Ч., Чічірельо-Константинович, К. Д., Куляс, С. М. (2019). Клініко-лабораторні особливості перебігу ВГВ у ВІЛ-інфікованих хворих Замбії. Вісник Вінницького національного медичного університету, 2 (23). 257-262.
6. Москалюк, В.Д., Рудан, І.В., Сорохан, В.Д. (2018). Особливості перебігу гепатиту В у ВІЛ-інфікованих осіб та їх лікування. *Інфекційні хвороби*. 3(93).
7. Aarvak, T., Chabaud, M., Miossec, P., Natvig, J.B.J. (1999). IL-17 is produced by some proinflammatory Th1/Th0 cells but not by Th2 cells. *Immunol*. 162(3), 1246-51.
8. Albanesi, C., Scarponi, C., Cavani, A., Federici, M, Nasorri, F, & Girolomoni, G.J. (2000). Interleukin-17 isproduced by both Th1 and Th2 lymphocytes, and modulates interferon-gamma- and interleukin-4-induced activation of human keratinocytes. *Invest Dermatol*. 115(1), 81-7.
9. Alter, M.J. (2003). Epidemiology of hepatitis B in Europe and worldwide. *J Hepatol*. 39 (1), S64-9.
10. Alter, M.J. (2016). Epidemiology of viral hepatitis and HIV-coinfection.

Journal of Hepatology. 84 (1), 6-9.

11. Baroni, G.S., D'Ambrosio, L., Curto, P., Casini, A., Mancini, R., Jezequel, A.M., & A. Benedetti (1996). Interferon g decreases hepatic stellate cell activation and extracellular matrix deposition in rat liver fibrosis. *Hepatology*. 23, 1189–1199.

12. Barron, L., & T. A. Wynn (2011). Fibrosis is regulated by Th2 and Th17 responses and by dynamic interactions between fibroblasts and macrophages. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*. 300, G723–G728.

13. Battistini, A., & Sgarbanti, M. (2014). HIV-1 latency: an update of molecular mechanisms and therapeutic strategies. *Viruses*. 6, 1715–58.

14. Beasley, R.P. (1988). Hepatitis B virus. The mojor etiology of hepatocellular carcinoma. *Cancer*. 97 (11), 2886-2895.

15. Belyhun, Y., Maier, M., & Liebert, U. G. (2017). HIV therapy with unknown HBV status is responsible for higher rate of HBV genome variability in Ethiopia. *Antivir Ther*, *22*(2), 97-11. doi: 10.3851/IMP3060.

16. Bengsch, B., B. Seigel, T. Flecken, J. Wolanski, H. E. Blum, & R. Thimme (2012). Human Th17 cells express high levels of enzymatically active dipeptidylpeptidase IV (CD26). *J. Immunol*. 188, 5438–5447.

17. Bettelli, E., T. Korn, M. Oukka, & V. K. Kuchroo (2008). Induction and effector functions of TH17 cells. *Nature*. 453, 1051–1057.

18. Bodsworth, N., Cooper, D., & Donovan, B. (2011). The influence of HIV-1 infection on the development of the hepatitis B carrier state. *J. Infect. Dis*. 243, 1138-1140.

19. Boulware, D.R., Hullsiek, K.H., Puronen, C.E., Rupert, A., Baker, J.V., French, M.A. et al. (2011). Higher levels of CRP, D-dimer, IL-6, and hyaluronic acid before initiation of antiretroviral therapy (ART) are associated with increased risk of AIDS or death. *J Infect Dis*. 203, 1637–1646.

20. Brenchley, J.M., Price, D.A., Schacker, T.W. et al. (2006). Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nat*

Med. 12(12), 1365–71.

21. Budhu, A., & Wang, X.W. (2006). The role of cytokines in hepatocellular carcinoma. J Leukoc Biol. 2006;80(6):1197–213.

22. Burdo, T.H., Lo, J., Abbara, S., Wei, J., DeLelys, M.E., Preffer, F. et al. (2011). Soluble CD163, a novel marker of activated macrophages, is elevated and associated with noncalcified coronary plaque in HIV-infected patients. *J Infect Dis.* 204, 1227–1236.

23. Castellares, C., Barreiro, P., Martin-Carbonero, L., … & Soriano, V. (2008). Liver cirrhosis in HIV-infected patients: prevalence, aetiology and clinical outcome. *J Viral Hepat*. 15(3), 165–72.

24. Chen, C.J., Iloeje, U.H., & Yang, H.I. (2007). Long-term outcomes in hepatitis B: the REVEAL-HBV study. *Clin Liver Dis*. 11, 797–816.

25. Chen, C.J., Yang, H.I., Su, J. et al. (2006). Risk of hepatocellular carcinoma across a biologial gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA*. 295 (l), 65-73.)

26. Chen, J., Shao, J., Cai, R., Shen, Y., Zhang, R., Liu, L., Qi, T., & Lu, H. (2014). Anti-retroviral therapy decreases but does not normalize indoleamine 2,3-dioxygenase activity in HIV-infected patients. *PLoS One*. 9(7), e100446.

27. Cho, H. J., Kim, S. S., Nam, J. S., Oh, M. J., Kang, D. R., Kim, J. K., ... & Lim, S. G. (2017). Higher serum interleukin-17A levels as a potential biomarker for predicting early disease progression in patients with hepatitis B virus-associated advanced hepatocellular carcinoma treated with sorafenib. *Cytokine*, *95*, 118-125.

28. Chow, J.C., Young, D.W., Golenbock, D.T., Christ, W.J., & Gusovsky, F. (1999). Toll-like receptor-4 mediates lipopolysaccharide-induced signal transduction. *J Biol Chem*. 274(16), 10689–92.

29. Christen, U., & Von Herrath, M.G. (2004) IP-10 and type 1 diabetes: a question of time and location. *Autoimmunity*. 37, 273–82.

30. Chu, C.J., Hussain, M., & Lok, A.S. (2002). Hepatitis B virus genotype B is associated with earlier HBeAg seroconversion compared with hepatitis B virus

genotype C. *Gastroenterology*. 122, 1756–1762.

31. Colin, J.F., Cazals-Hatem, D., Loriot, M.A., Martinot-Peignoux, M., Pham, B.N. et al. (1999). Influence of human immunodeficiency virus infection on chronic hepatitis B in homosexual men. *Hepatology*. 29(4), 1306–10.

32. Cozzi-Lepri, A., French, M.A., Baxter, J., Okhuysen, P. et al. (2011). Resumption of HIV replication is associated with monocyte/macrophage derived cytokine and chemokine changes: results from a large international clinical trial. *AIDS*. 25, 1207–1217.

33. Crane, M., Visvanathan, K., & Lewin, S.R. (2012). HIV infection and TLR Signalling in the liver. *Gastroenterol Res Pract*. 2012, 473925.

34. Daw, Mohamed A., Shabash, A., El-Bouzedi, A., & Aghnya A. (2014). Dau Seroprevalence of HBV, HCV & HIV Co-Infection and Risk Factors Analysis in Tripoli-Libya. *PLoS One*. 17;9(6), e98793. doi: 10.1371/journal.pone.0098793.

35. de Torres, M., & Poynard, T. (2003). Risk factors for liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Ann Hepatol*. 2,5–11.

36. Debes, J.D., Bohjanen, P.R., & Boonstra, A. (2016). Mechanisms of accelerated liver fibrosis progression during HIV infection. *J Clin Transl Hepatol*. 4, 328–335.

37. Denis, F., Adjide, C.C., Rogez, S., Delpeyroux, C., Rogez, J.P., & Weinbreck, P. (1997). Seroprevalence of HBV, HCV and HDV hepatitis markers in 500 patients infected with the human immunodeficiency virus. *Pathol Biol*. 45, 701–708.

38. Desalegn, H., Aberra, H., Berhe, N., et al. (2017). Are non-invasive fibrosis markers for chronic hepatitis B reliable in sub-Saharan Africa? *Liver Int*. 10, 1461–1467.

39. Donahue, D.A., & Wainberg, M.A. (2013). Cellular and molecular mechanisms involved in the establishment of HIV-1 latency. Retrovirology. 10, 11.

40. El Sebaii, H. M., El-Hamid, A. K. A., Elnour, E. S. A., El-Azab, G. I., El-Helbawy, N. G., & El-Naidany, S. S. (2018). mRNA expression of interleukin-17 in

viral hepatitis B and hepatocellular carcinoma patients. *Menoufia Medical Journal*, *31*(3), 753-61.

41. Fabre, T., Molina, M. F., Soucy, G., Goulet, J. P., Willems, B., Villeneuve, J. P., ... & Shoukry, N. H. (2018). Type 3 cytokines IL-17A and IL-22 drive TGF-β–dependent liver fibrosis. *Science immunology*, *3*(28), eaar7754.

42. Foster, R. G., Golden-Mason, L., Rutebemberwa, A., & Rosen, H. R. (2012). Interleukin (IL)-17/IL-22-producing T cells enriched within the liver of patients with chronic hepatitis C viral (HCV) infection. *Dig. Dis. Sci*. 57, 381–389.

43. Friedman, S. L. (2008). Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*. 134, 1655–1669.

44. Gaffen, S. L. (2009). Structure and signalling in the IL-17 receptor family. *Nat. Rev. Immunol*. 9, 556–567.

45. Guidelines for the Prevention, Care and Treatment of Persons With Chronic Hepatitis B Infection (2015). Geneva, Switzerland: WHO.

46. Harvey, C.E., Post, J.J., Palladinetti, P. et al. (2003). Expression of the chemokine IP-10 (CXCL10) by hepatocytes in chronic hepatitis C virus infection correlates with histological severity and lobular inflammation. *J Leukoc Biol*. 74, 360–9.

47. Hawkins, C., Agbaji, O., Ugoagwu, P., Thio, C.L., Auwal, M.M., Ani, C., Okafo, C., Wallender, E., & Murphy, R.L. (2013). Assessment of liver fibrosis by transient Elastography in patients with HIV and hepatitis B virus coinfection in Nigeria. *Clin Infect Dis.* 57(12), e189–92.

48. Hawkins, C., Christian, B., Ye, J. et al. (2013). Prevalence of hepatitis B co-infection and response to antiretroviral therapy among HIV-infected patients in Tanzania. *AIDS.* 27, 919–927.

49. HBV vaccines: WHO position paper. (2009).

50. Hoffmann, C.J., Seaberg, E.C., Young, S. … & Thio, C.L. (2009). Hepatitis B and long-term HIV outcomes in coinfected HAART recipients. *AIDS*. 23 (14), 1881–9.

51. Jaroszewicz, J., Reiberger, T., Meyer-Olson, D., Mauss, S., Vogel, M., Ingiliz, P, et al. (2012). Hepatitis B surface antigen concentrations in patients with HIV/HBV coinfection. *PLoS One*. 7, e43143.

52. Jimenez-Sousa, M.A., Almansa, R., de la Fuente, C., Caro-Paton, A., Ruiz, L., Sanchez-Antolin, G., Gonzalez, J.M. et al. (2010). Increased Th1, Th17 and pro-fibrotic responses in hepatitis C-infected patients are down-regulated after 12 weeks of treatment with pegylated interferon plus ribavirin. *Eur Cytokine Netw*. 21(2), 84–91.

53. Jin, Wei & Dong, Chen (2013). IL-17 cytokines in immunity and inflammation. *Emerg Microbes Infect.* 2(9), e60.

54. Jin-no, K., Tanimizu, M., Hyodo, I., Kurimoto, F., & Yamashita, T. (1997). Plasma level of basic fibroblast growth factor increases with progression of chronic liver disease. *J Gastroenterol*. 32(1), 119–21.

55. Jobarteh, M., Malfroy, M., Peterson, I., Jeng, A., Sarge-Njie, R., et al. (2010). Seroprevalence of hepatitis B and C virus in HIV-1 and HIV-2 infected Gambians. *Virol J*. 7, 230–239.

56. Jooste, P., van Zyl, A., Adland, E., Daniels, S., Hattingh, L., Brits, A., ... & Goulder, P. (2016). Screening, characterisation and prevention of Hepatitis B virus (HBV) co-infection in HIV-positive children in South Africa. *Journal of Clinical Virology, 85,* 71-74. doi: 10.1016/j.jcv.2016.10.017

57. Kao, J.H., Wu, N.H., Chen, P.J., Lai, M.Y., & Chen, D.S. (2000). Hepatitis B genotypes and the response to interferon therapy. *J Hepatol.* 33, 998–1002.

58. Kato, H., Orito, E., Gish, R.G., et al. (2002). Characteristics of hepatitis B virus isolates of genotype G and their phylogenetic differences from the other six genotypes (A through F). *J Virol.* 76, 6131–6137.

59. Kellerman, S.E., Hanson, D.L., McNaghten, A.D., & Fleming, P.L. (2003). Prevalence of chronic hepatitis B and incidence of acute hepatitis B infection in human immunodeficiency virus-infected subjects. *J Infect Dis*. 188, 571–577.

60. Kluwe, J., Pradere, J. P., Gwak, G. Y., … & Schwabe, R. F. (2010). Modulation of hepatic fibrosis by c-Jun-N-terminal kinase inhibition. *Gastroenterology*. 138, 347–359.

61. Koibuchi, T., Hitani, A., Nakamura, T., Nojiri, N., Nakajima, K., Jyuji, T. et al. (2001). Predominance of genotype A HBV in an HBV-HIV-1 dually positive population compared with an HIV-1-negative counterpart in Japan. *J Med Virol.* 64, 435–440.

62. Kolb, S.A., Sporer, B., Lahrtz, F., Koedel, U., Pfiste, H.W., & Fontana, A. (1999). Identificatio of a T cell chemotactic factor in the cerebrospinal flui of HIV-1-infected individuals as interferon-g inducible protein 10. *J Neuroimmunol.* 93, 172–81.

63. Konopnicki, D., Mocroft, A., de Wit, S., Antunes, F., Ledergerber, B., et al. (2005). Hepatitis B and HIV: prevalence, AIDS progression, response to highly active antiretroviral therapy and increased mortality in the EuroSIDA cohort. *AIDS*. 19(6), 593–601.

64. Korn, T., M. Oukka, V. Kuchroo, & E. Bettelli (2007). Th17 cells: effector T cells with inflammatory properties. *Semin. Immunol*. 19, 362–371.

65. Kuller, L.H., Tracy, R., Belloso, W., De, Wit. S. et al. (2008). Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLoS Med*. 5, e203.

66. Kutsch, O., Oh, J., Nath, A., & Benveniste, E.N. (2000). Induction of the chemokines interleukin-8 and IP-10 by human immunodeficienc virus type 1 tat in astrocytes. *J Virol*. 74, 9214–21.

67. Lacombe, K., Massari, V., Girard, P.M., Serfaty, L., & Gozlan, J. (2006). Major role of hepatitis B genotypes in liver fibrosis during coinfection with HIV. *Aids.* 14;20(3), 419-27.

68. Lamagni, T., Davison, K., & Hope, V. (2009). Poor hepatitis B vaccine coverage in injecting drug users: England, 2005 and 2006. *Common Dis. Public Health*. 42, 174-177.]

69. Lane, B.R., King, S.R., Bock, P.J., Strieter, R.M., Coffey, M.J., & Markovitz, D.M. (2003). The C-X-C chemokine IP-10 stimulates HIV-1 replication. *Virology*. 307, 122–134.

70. Lederman, M.M., Calabrese, L., Funderburg, N.T., Clagett, B., Medvik, K., Bonilla, H. et al. (2011). Immunologic failure despite suppressive antiretroviral therapy is related to activation and turnover of memory CD4 cells. *J Infect Dis*. 204, 1217–1226.

71. Lemmers, A., Moreno, C., Gustot, T., Mare, R., …& Quertinmont, E. (2009). The interleukin-17 pathway is involved in human alcoholic liver disease. *Hepatology*. 49, 646–657.

72. Lenarczyk, A., Helsloot, J., Farmer, K., Peters, L., Sturgess, A., & Kirkham, B. (2000). Antigen-induced IL-17 response in the peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of healthy controls. *Clin Exp Immunol*. 122(1), 41-8.

73. Li, H., Chen, J., Huang, A., Stinson, J., Heldens, S., Foster, J., Dowd, P., Gurney, A.L., & Wood, W.I. (2000). Cloning and characterization of IL-17B and IL-17C, two new members of the IL-17 cytokine family. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 18, 97(2), 773-8.

74. Liaw, Y.F., Tai, D.I., Chu, C.M., & Chen, T.J. (1988). The development of cirrhosis in patients with chronic type B hepatitis: a prospective study. *Hepatology*. 8(3), 493-6.

75. Liovat, A.-S., Rey-Cuille, M.-A., Le curoux, C. et al. (2012). Acute plasma biomarkers of T cell activation set-point levels and of disease progression in HIV-1 infection. *PLoS One*. 7, e46143.

76. Liu, M.T., Keirstead, H.S., & Lane, T.E. (2001). Neutralization of the chemokine CXCL10 reduces inflammato y cell invasion and demyelination and improves neurological function in a viral model of multiple sclerosis. *J Immunol*. 167, 4091–7).

77. Lô, G., Sow-Sall, A., Diop-Ndiaye, H., Mandiouba, N. C. I. D., Thiam, M., Diop, F., ... & Mbow, M. (2016). Prevalence of hepatitis B markers in Senegalese

HIV-1-infected patients. *Journal of medical virology*, *88*(3), 461-465.

78. Lu, W., Mehraj, V., Vyboh, K., Cao, W., Li, T., & Routy, J.P. (2015). CD4:CD8 ratio as a frontier marker for clinical outcome, immune dysfunction and viral reservoir size in virologically suppressed HIV-positive patients. *J Int AIDS Soc*. 18, 20052.

79. Luster, A.D., Unkeless, J.C., & Ravetch, J.V. (1985). g-Interferon transcriptionally regulates an early-response gene containing homology to platelet proteins. *Nature.* 315, 672–6.

80. Lyons, J.L., Uno, H., Ancuta, P., Kamat, A. et al. (2011). Plasma sCD14 is a biomarker associated with impaired neurocognitive test performance in attention andlearning domains in HIV infection. *J Acquir Immune Defic Synd*r. 57, 371–379.

81. Macek Jilkova, Z., Afzal, S., Marche, H., Decaens, T., Sturm, N., Jouvin-Marche, E., ... & Marche, P. N. (2016). Progression of fibrosis in patients with chronic viral hepatitis is associated with IL-17+ neutrophils. *Liver International*, *36*(8), 1116-1124.

82. Maponga, T.G., Monique I. Andersson, M.I., … & Glashoff R.H. (2018). HBV and HIV viral load but not microbial translocation or immune activation are associated with liver fibrosis among patients in South Africa. *BMC Infectious Diseases.* 18, 214

83. Marchetti, G.,Cozzi-Lepri, A., Merlini, E., Bellistrı, G.M., Castagna, A., Galli, M. et al. (2011). Microbial translocation predicts disease progression of HIV-infected antiretroviral-naive patients with high CD4R cell count. *AIDS.* 25,1385–1394.

84. Martin-Carbonero, L., Benhamou, Y., Puoti, M. … & Soriano, V. (2004). Incidence and predictors of severe liver fibrosis in human immunodeficiency virus-infected patients with chronic hepatitis C: a European collaborative study. *Clin Infect Dis.* 38(1), 128-33.

85. Matthews, P. C., Beloukas, A., Malik, A., Carlson, J. M., Jooste, P., Ogwu, A., ... & Jaggernath, M. (2015). Prevalence and characteristics of hepatitis B virus (HBV) coinfection among HIV-positive women in South Africa and

Botswana. *PLoS One*, *10*(7), e0134037. doi: 10.1371/journal.pone.0134037.

86. McMahon, B.J., Holck, P., Bulkow, L., & Snowball, M. (2001). Serologic and clinical outcomes of 1536 Alaska Natives chronically infected with hepatitis B virus. *Ann Intern Med*. 6;135(9), 759-68.

87. Meng, F., K. Wang, T. Aoyama, S. I. Grivennikov, Y. Paik, D. Scholten, M. Cong, K. Iwaisako, X. Liu, M. Zhang, et al. (2012). Interleukin-17 signaling in inflammatory, Kupffer cells, and hepatic stellate cells exacerbates liver fibrosis in mice. *Gastroenterology*. 143, 765–776.

88. Mentink-Kane, M. M., A. W. Cheever, M. S. Wilson, S. K. Madala, L. M. Beers, T. R. Ramalingam, & T. A. Wynn (2011). Accelerated and progressive and lethal liver fibrosis in mice that lack interleukin (IL)-10, IL-12p40, and IL13Ra2. *Gastroenterology*. 141, 2200–2209.

89. Mimura, Y., Sakisaka, S., Harada, M., Sata, M., & Tanikawa, K. (1995). Role of hepatocytes in direct clearance of lipopolysaccharide in rats. *Gastroenterology*. 109(6), 1969–76.

90. Moroz, L., Soni, S., Dudnyk, V., & Zaichko, N. (2019). Predictive value of serum IL-17A and IP-10 for evaluation of liver fibrosis progression in patients with HBV/HIV co-infection. Georgian medical news, (290), 73-77.

91. Mosmann, T.R., Cherwinski, H., Bond, M.W., Giedlin, M.A., & Coffman, R.L. (1986). Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol*. 136(7), 2348-57.

92. Murphy, G. (2011). Tissue inhibitors of metalloproteinases. *Genome Biol*. 12, 233.

93. Neville, L.F., Mathiak, G., & Bagasra, O. (1997). The immunobiology of interferongamma inducible protein 10 kD (IP-10): a novel, pleiotropic member of the C-X-C chemokine superfamily. *Cytokine Growth Factor Rev*. 8, 207–19.

94. Nicoletti, F., Conget, I., Di Mauro, M. et al. (2002). Serum concentrations of the interferon-g-inducible chemokine IP-10/CXCL10 are augmented in both newly

diagnosed type I diabetes mellitus patients and subjects at risk of developing the disease. *Diabetologia*. 45, 1107–10.

95. Noel, N., Boufassa, F., Lécuroux, C., … & Lambotte, O. (2014). Elevated IP 10 levels are associated with immune activation and low CD4R T-cell counts in HIV controller patients. *AIDS*. 28(4), 467-76. doi: 10.1097/QAD.0000000000000174

96. Orito, E., Ichida, T., Sakugawa, H., Sata, M., Horiike, N., Hino, K., et al. (2001). Geographic distribution of hepatitis B virus (HBV) genotype in patients with chronic HBV infection in Japan. *Hepatology*. 34, 590–594.

97. Perz, J.F., Farrington, L.A., Pecoraro, C., Hutin, Y.J.F., & Armstrong, G.L. (2004). Estimated global prevalence of hepatitis C virus infection [abstract]. In: Abstracts of the Infectious Diseases Society of America 42nd annual meeting. Boston, MA.

98. Peto, T.J., Mendy, M.E., Lowe, Y., Webb, E.L., Whittle, H.C., & Hall, A.J. (2014). Effi cacy and eff ectiveness of infant vaccination against chronic hepatitis B in the Gambia Hepatitis Intervention Study (1986–90) and in the nationwide immunisation program. *BMC Infect Dis*. 14, 7.

99. Price, J.C., Seaberg, E.C., Badri, S. et al. (2012). HIV monoinfection is associated with increased aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index, a surrogate marker for hepatic fibrosis. *J Infect Dis*. 205, 1005–1013.

100. Puglia, M., Stasi, C., DaFrè, M., & Voller, F. (2016). Prevalence and characteristics of HIV/HBV and HIV/HCV coinfections in Tuscany. *Braz J Infect Dis*. 20(4), 330-4. doi: 10.1016/j.bjid.2015.11.007

101. Qin, S.Y., Lu, D.H., Guo, X.Y., Luo, W., Hu, B.L., Huang, X.L., Chen M. et al. (2016). A deleterious role for Th9/IL-9 in hepatic fibrogenesis. *Sci Rep*. 6, 18694.

102. Ramani, K., & Biswas, P. S. (2019). Interleukin-17: Friend or foe in organ fibrosis. *Cytokine*.

103. Reald, G., Fattovich, G., Hadziyannis, S., & Schalm, S.W. (1994). Survival and prognostic factors in 366 patients with compensated cirrhosis type B: a

multicenter study. *J Hepatol*. 21(4), 656-66.

104. Rey, D., Krantz, V., & Partisani, M. (2010). Increasing the number of hepatitis B vaccine injections augments anti-HBs response rate in HIV infected patients. Effects on HIV-1 viral load. *Vaccine*. 58, 1161-1165.

105. Roca, B., Suarez, I., Gonzalez, J., Garrido, M. et al. (2003). Hepatitis C virus and human immunodeficiency virus coinfection in Spain. *J Infect*. 47, 117–124.

106. Romero, Ana I., Lagging, M., Westin, J., … & Hellstrand K. (2006). Interferon (IFN)–g–Inducible Protein–10: Association with Histological Results, Viral Kinetics, and Outcome during Treatment with Pegylated IFN-a2a and Ribavirin for Chronic Hepatitis C Virus. *J Infect Dis.* 1;194(7), 895-903.

107. Rusine, J., Ondoa, P., Asiimwe-Kateera, B. et al. (2013). High Seroprevalence of HBV and HCV Infection in HIV-Infected Adults inKigali, Rwanda. *PloS.* 8, e63303.5.

108. Sandler, N.G., Koh, C., Roque, A., Eccleston, J.L., Siegel. R.B., Demino, M. et al. (2011). Host response to translocated microbial products predicts outcomes of patients with HBV or HCV infection. Gastroenterology. 141(4), 1220-30. 1230 e1221-1223.

109. Sandler, N.G., Wand, H., Roque, A., Law, M., Nason, M.C., Nixon, D.E. et al. (2011). Plasma levels of soluble CD14 independently predict mortality in HIV infection. *J Infect Dis*. 203, 780–790.

110. Siliciano, R.F., & Greene, W.C. (2011). HIV latency. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 1, a007096.

111. Soni, S. C., Moroz, L. V., Havrylyuk, A. O., & Chichirelo-Konstantynovych, K. D. (2019). Morphological features of liver effect in patients with chronic hepatitis B with HIV-coinfection. Journal of Education, Health and Sport, 9(6), 503-513.

112. Sparna, T., Re ´tey, J., Schmich, K. … & Merfort, I. (2010). Genome-wide comparison between IL-17 and combined TNF-a/IL-17 induced genes in primary murine hepatocytes. *BMC Genomics*. 11, 226.

113. Stabinski, L., Reynolds, S.J., Ocama, P. et al. (2011). High prevalence of liver fibrosis associated with HIV infection: a study in rural Rakai, Uganda. *Antivir Ther*. 16(3), 405–11.

114. Stockdale, A. J., Phillips, R. O., & Geretti, A. M. (2016). The gamma-glutamyl transpeptidase to platelet ratio (GPR) shows poor correlation with transient elastography measurements of liver fibrosis in HIV-positive patients with chronic hepatitis B in West Africa. Response to:'The gamma-glutamyl transpeptidase to platelet ratio (GPR) predicts significant liver fibrosis and cirrhosis in patients with chronic HBV infection in West Africa'by Lemoine et al. *Gut*, *65*(5), 882-884. doi: 10.1136/gutjnl-2015-311133.

115. Stuyver, L., de Gendt, S., van Geyt, C., Zoulim, F. et al. (2000). A new genotype of hepatitis B virus: complete genome and phylogenetic relatedness. *J Gen Virol*. 81, 67–74.

116. Stylianou, E., Aukrust, P., Bendtzen, K., Mu¨ller, F., & Frøland, S.S. (2000). Interferons and interferon (IFN)-inducible protein 10 during highly active antiretroviral therapy (HAART)-possible immunosuppressive role of IFN-alpha in HIV infection. *Clin Exp Immunol*. 119, 479–485.

117. Sumi, H., Yokosuka, O., Seki, N, et al. (2003). Influence of hepatitis B virus genotypes on the progression of chronic type B liver disease. *Hepatology*. 37, 19–26.

118. Sun, H.Q., Zhang, J.Y., Zhang, H., Zou, Z.S., Wang, F.S., & Jia, J.H. (2012). Increased Th17 cells contribute to disease progression in patients with HBV-associated liver cirrhosis. *J Viral Hepat*. 19(6), 396–403.

119. Tan, Z., X. Qian, R. Jiang, Q. Liu, Y. Wang, C. Chen, X. Wang, B. Ryffel, & B. Sun (2013). IL-17A plays a critical role in the pathogenesis of liver fibrosis through hepatic stellate cell activation. *J. Immunol*. 191, 1835–1844.

120. Thio, C. (2013). Hepatitis B in the HIV-infected patient: epidemiology,natural history and treatmen. *Seminars in Liver Disease*. 63, 125-136.

121. Thio, C.L. (2009). Hepatitis B and human immunodeficiency virus

coinfection. *Hepatology*. 49(S5), S138–45.

122. Thio, C.L., Seaberg, E.C., Skolasky, R. Jr. et al. (2002). HIV-1, hepatitis B virus, and risk of liver-related mortality in the Multicenter Cohort Study (MACS). *Lancet.* 360, 1921–1926.

123. Tilton, J.C., Johnson, A.J., Luskin, M.R. et al. (2006). Diminished production of monocyte proinflammatory cytokines during human immunodeficiency virus viremia is mediated by type I interferons. *J Virol*. 80(23), 11486–97.

124. Tran, T.T. (2011). Immune tolerant hepatitis B: a clinical dilemma. *Gastroenterol Hepatol* (N Y). 7(8), 511–6.

125. Tsunoda, I., Lane, T.E., Blackett, J., & Fujinami, R.S. (2004). Distinct roles for IP-10/ CXCL10 in three animal models, Theiler's virus infection, EAE, and MHV infection, for multiple sclerosis: implication of differing roles for IP-10. *Mult Scler*. 10, 26–34.

126. Uneke, C., Ogbu, O., Inyama, P., Anyanwu, G.I., Njoku, M.O., & Idoko, J.H. (2015). Prevalence of hepatitis B surface antigen among blood donors and HIV-infected patients in Jos, Nigeria. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*., 140, 13-16)

127. Vento, S., Di Perri, G., Garofano, T., Concia, E., Bassetti, D. (1989). Reactivation of hepatitis B in AIDS. *Lancet*. 2, 108–109.

128. Vinikoor, M.J., Mulenga, L., Siyunda, A. et al. (2016). Association between hepatitis B co-infection and elevated liver stiffness among HIV-infected adults in Lusaka, Zambia. *Trop Med Int Health*. 21, 1435–1514.

129. Wada, N.I., Jacobson, L.P., Margolick, J.B., Breen, E.C., Macatangay, B., Penugonda, S., Martinez-Maza, O., & Bream, J.H. (2015). The effect of HAART-induced HIV suppression on circulating markers of inflammation and immune activation. *AIDS*. 29(4), 463–71.

130. Wasley, A., Alter, M. (2000). Epidemiology of hepatitis C: geographic differences and temporal trends. *Semin Liver Dis*. 20, 1–16.

131. WHO (2005). AIDS epidemic update 2004. http://www.unaids.org/wad2004/ report_pdf.html.

132. WHO global health estimates (Global Health Estimates 2015: deaths by cause, age, sex, by country and by region, 2000-2015). Geneva: World Health Organization.

133. World Health Organization (2017). Hepatitis B: fact sheet. BMJ.

134. Xi, C., Jia, Z., Xiaoli, W., Na, Z., He, W., & Hao, J. (2019). New Aspect of Liver IL-17+ γδ T Cells. *Molecular immunology*, *107*, 41-43.

135. Yamaguchi, Y., Fujio, K., Shoda, H, … & Yamamoto, K.J. (2007). IL-17B and IL-17C are associated with TNF-alpha production and contribute to the exacerbation of inflammatory arthritis. *Immunol*. 179 (10), 7128-36.

136. Yan, S., L. Wang, N. Liu, Y. Wang, & Y. Chu (2012). Critical role of interleukin17/interleukin-17 receptor axis in mediating Con A-induced hepatitis. Immunol. *Cell Biol*. 90, 421–428.

137. Zhang, J. Y., Z. Zhang, F. Lin, Z. S. Zou, R. N. Xu, L. Jin, J. L. Fu, F. Shi, M. Shi, H. F. Wang, & F. S. Wang (2010). Interleukin-17-producing CD4+ T cells increase with severity of liver damage in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology.* 51, 81–91.

138. Zhang, L. J., W. D. Zheng, M. N. Shi, & X. Z. Wang (2006). Effects of interleukin-10 on activation and apoptosis of hepatic stellate cells in fibrotic rat liver. *World J. Gastroenterol*. 12, 1918–1923.

139. Zhang, L., X. Wang, W. Zheng, & M. Shi (2006). The effects of interleukin-10 on the expression of Fas and FasL in rat hepatic stellat6e cells. *Med. Chem.* 2: 611–616.

140. Zhu, S., Zhang, H., Dong, Y. et al. (2013). The correlation between T helper type 17 cells and clinical characters in Chinese paediatric patients with chronic hepatitis B. *Clin Exp Immunol*. 171, 307–12)

ДОДАТОК А

Список публікацій здобувача:

1. Мороз, Л. В., Соні, С. Ч. (2018). Поширеність HIV, HBV, HCV інфекцій серед здорових донорів західної провінції Замбії. *Гепатологія,* 4 (42). 38–44. *(Дисертанту належать узагальнення літературних джерел, статистична обробка отриманих результатів дослідження, технічне оформлення роботи).*
2. Мороз, Л. В., Соні, С. Ч., Бевз, Т. І. Чічірельо-Константинович, К. Д. (2019). Рівні IL-17A, IP-10 в сироватці крові у пацієнтів з HBV-інфекцією та HBV/HIV-коінфекцією у західній провінції Замбії. *Гепатологія,* 2 (44). 6–11. *(Дисертанту належать розробка дизайну дослідження, підбір тематичних хворих, узагальнення літературних джерел, формулювання висновків).*
3. Мороз, Л. В., Соні, С. Ч., Чічірельо-Константинович, К. Д., Куляс, С. М. (2019). Клініко-лабораторні особливості перебігу ВГВ у ВІЛ-інфікованих хворих Замбії. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 2 (23). 257-262. *(Дисертанту належать розробка дизайну дослідження, підбір тематичних хворих, узагальнення літературних джерел, формулювання висновків).*
4. Moroz, L., Soni, S., Dudnyk, V., & Zaichko, N. (2019). Predictive value of serum IL-17A and IP-10 for evaluation of liver fibrosis progression in patients with HBV/HIV co-infection. *Georgian medical news*, (290), 73-77. *(Дисертанту належать узагальнення літературних джерел, підбір тематичних хворих, статистична обробка отриманих результатів, технічне оформлення роботи).*
5. Soni, S. C., Moroz, L. V., Havrylyuk, A. O., & Chichirelo-Konstantynovych, K. D. (2019). Morphological features of liver effect in patients with chronic hepatitis B with HIV-coinfection. *Journal of Education, Health and Sport*, *9*(6), 503-513. *(Дисертанту належать обстеження тематичних хворих, проведення біопсії печінки пацієнтам, узагальнення результатів, технічне оформлення роботи).*

ДОДАТОК Б

Апробація результатів дисертації:

1. Всеукраїнській науково-практичній конференції інфекціоністів «Інфекційні хвороби і біобезпека», м. Хмельницький, 2019 року;
2. XVI науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку - 2019», м. Вінниця, 2019 року;
3. Всеукраїнській науково-практичній конференції інфекціоністів і пленуму ГО «Всеукраїнська асоціація інфекціоністів» «Сучасні діагностичні, лікувальні і профілактичні технології у практиці інфекціоніста», м. Чернівці, 2018 року;
4. XIII міжрегіональній науково-практичній конференції «Загальна практика – сімейна медицина: сучасні стандарти діагностики, лікування та профілактики», м. Вінниця, 2018 року;
5. XIV науково-практичному симпозіумі «Сучасна гастроентерологія: актуальні питання діагностики, лікування та профілактики», м. Вінниця, 2019 року;
6. засіданні Вінницької школи лікарів загальної практики – сімейної медицини «Актуальні питання загальної практики – сімейної медицини», м. Вінниця, 2019 року;

ДОДАТОК В

INDIVIDUAL PATIENT RECORD

Patient ID_____ Age_____ Sex_____

HBsAg:_____

Anti-HIV:_____

Chief Complaints:_____

LABORATORY ANALYSIS

DESCRIPTIONS	RESULTS	NORMAL RANGES
AST		0.0-35.0 U/L
ALT		0.0-0.45 U/L
Direct billirubin		0.0-3.4 umol/L
Billirubin total		2.1-21.0 umol/L
S. creatinine		45.0-105.0 mmol/L
S. urea		2.80-7.20 mmol/L
T. protein		60-80.0
Cholesterol		0.0-6.2 mmo;/L
Triglyceride		0.0-2.20 mmol/L
CD4		
Blood group		
IP-10		
IL-17A		
Fibrosis		

LDH		<4.5 mmol/L*h
GGT		7-32 U/L
ALP		42-128 U/L
Albumine		35-50 g/L
αFP		<10 U/L

Complaints:

1. Fatigue (absent / mild / severe)
2. Weakness (absent / mild / severe)
3. Sleep disorder (absent / mild / severe)
4. Nausea (absent / mild / severe)
5. Feeling of heaviness in the right hypochondrium (absent / mild / severe)
6. Decreased appetite (absent / mild / severe)
7. Icteric sclera and skin (absent / mild / severe)
8. Itching (absent / mild / severe)

Palpation:

- Liver
- Spleen

Ultrasound:

- **Liver**
  - Right lobe _____ (N: 110 - 140 mm)
  - Left lobe _____ (N: 60 - 80 mm)
  - Portal vein _____ (N: ≤ 13 mm)
  - Echogenicity (not increased / increased)
  - Structure (fine-grained / medium-grained / coarse-grained)
  - Bottom edge (sharp / rounded)
- **Spleen**
  - Size _____ (N: ≤120*80*50 mm)
  - Echostructure (homogeneous / heterogeneous)

ДОДАТОК Г

Акти впроваджень

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор
з наукової роботи
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
_____ проф. О.В. Власенко
«13» 06 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Метод прогнозування фіброзоутворення печінки у пацієнтів з коінфекцією HBV/HIV при обстеженні на IL-17A, IP-10.

2. **Установа-розробник:** ДВНЗ «Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова», кафедра інфекціних хвороб з курсом епідеміології, м. Вінниця, Хмельницьке шосе, 96, 21018, Україна.

Розроблювач: Соні Субхаш Чанд.

Джерело інформації: Moroz L. et al. Predictive value of serum IL-17A and IP-10 content for liver fibrosis progression in patients with HBV/HIV co-infection / Georgian medical news. – 2019. - №290. – С73-77.

Базова установа, яка проводить впровадження: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра інфекціних хвороб з курсом епідеміології .

3. **Результати застосування** пропозиції за період з вересня по грудень 2019 р. Матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри інфекціних хвороб з курсом епідеміології на практичних заняттях.

4. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації:** Використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо маркерів прогресування фіброзу печінки у пацієнтів з коінфекцією HBV/HIV.

5. **Зауваження, пропозиції:** не вносилися.

6. **Затверджено** на засіданні кафедри інфекціних хвороб з курсом епідеміології 28.08.2019 (протокол № 1)

7. **Термін впровадження:** 1 міс.

Відповідальний за впровадження: проф. Мороз Л. В.

Завідувач кафедри інфекціних хвороб
з курсом епідеміології
Вінницького національного
медичного університету ім. М.І. Пирогова,
доктор медичних наук, професор Л. В. Мороз

*

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
ТВО директора КНП «ВМКЛ №1»
Чорна Л. В. _____
Керівник установи, де проведено впровадження
«14» 06 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Спосіб визначення рівня IP-10 в сироватці крові хворих з ХГВ на тлі ВІЛ - інфекції в якості предикторів формування фіброзу печінки.
найменування пропозиції для впровадження[1]

2. Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, 21018, м.Вінниця, вул. Пирогова, 56, С. Ч. Соні, Л. В. Мороз
установа, що розробила, її поштова адреса, прізвище, ім'я по батькові авторів[2]

3. Джерело інформації: Moroz L., Soni S., Dudnik V., Zaichko N. Predictive value of serum IL-17A and IP-10 content for liver fibrosis progression in patients with HBV/HIV co-infection. *Georgian medical news*. 2019. № 290. С.73-77.
назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні дані статті, № а.с. і т.п.[2]

4. Впроваджено: міська клінічна лікарня № 1, м. Вінниця.
найменування лікувально-профілактичного закладу[4]

5. Термін впровадження[4]: 1 місяць.

6. Загальна кількість спостережень[4] 94 (дев'яносто чотири)

7. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями викладеними у джерелі інформації (п.3)

Показники[5]	За даними	
	авторів, які пропонують впровадження	організації, що впровадила[4]
Рівень IP-10 в сироватці крові.	Перевага запропонованого способу полягає у можливості виділення групи хворих з вираженим фіброзом та цирозом печінки (F3 - F4) методом визначення рівня IP-10 в сироватці крові як неінвазивного маркера фіброза.	

8. Зауваження, пропозиції[4]: запропонований спосіб слід широко впроваджувати в інфекційних стаціонарах.

9. Відповідальний за впровадження: завідуючий інфекційним відділенням міської клінічної лікарні № 1 м. Вінниці Чорний А. М.

«14» 06 2019 р.

1 Узагальнені акти впровадження затверджує заст. завідуючого відділом охорони здоров'я.
2 Заповнюється розробником.
4 Заповнюється організацією, яка впровадила розробку.
5 В акт вдруковується тільки ті показники, яким відповідає дана розробка.

REPUBLIC OF ZAMBIA
MINISTRY OF HEALTH
LEWANIKA GENERAL HOSPITAL
MEDICAL SUPERINTENDENT (M.S.)
P.O. BOX 910147
MONGU

«Approved»

Senior Med Superintendent of
Lewanika General Hospital
(Zambia)
Samutumwa Njekwa

«15» 06 2019

IMPLEMENTATION

1. 1. The method of determining the level of IL-17A in the serum of patients with HBV/ HIV- infected patients as predictor of liver fibrosis.
2. National Pirogov Memorial Medical University, 21018, Vinnytya, Str. Pirogova, 56, Soni S.
3. Reference: Moroz L., Soni S., Dudnik V., Zaichko N. Predictive value of serum IL-17A and IP-10 content for liver fibrosis progression in patients with HBV/HIV co-infection. *Georgian medical news*. 2019. № 290. P.73-77.
4. Implemented: Lewanika General Hospital (Mongu, Zambia)
5. Implementation period: 1 month.
6. Total number of observations 37 (thirty seven)
7. Effectiveness of implementation in accordance with the criteria set out in the source of information

Indexes	Data	
	Of authors of implementation	Of implementing organizations
IL-17A level in blood level	The advantage of the proposed method is the possibility of isolating a group of patients with severe fibrosis and cirrhosis (F3 - F4) by the determining the level of IL-17A in the serum as a non-invasive marker of fibrosis.	

8. Comments, suggestions: The proposed method is to be widely implemented in infectious hospitals
9. Responsible for implementation: Soni S., Head clinical Care, HoD IMED

«15» 06 2019

REPUBLIC OF ZAMBIA
MINISTRY OF HEALTH
LEWANIKA GENERAL HOSPITAL

«Approved»

Senior Med Superintendent of
Lewanika General Hospital
(Zambia)
Samutumwa Njekwa

«28» 06 2019

IMPLEMENTATION

1. Immunehistochemistry method of investigating morphological liver changes in biopsy material of patients with HBV/HIV-coinfection.
2. National Pirogov Memorial Medical University, 21018, Vinnytya, Str. Pirogova, 56, Soni S.
3. Reference: Soni S. C., Moroz L. V., Havrylyuk A. O. Chichirelo-Konstantynovych K. D. Morphological feature of liver effect in patients with chron-ic hepatitis B with HIV-coinfection. *Journal of Education, Health and Sport*. Poland, 2019. 9(6). P. 503–513.
4. Implemented: Lewanika General Hospital (Mongu, Zambia)
5. Implementation period: 1 month.
6. Total number of observations 15 (fiveteen)
7. Effectiveness of implementation in accordance with the criteria set out in the source of information

Indexes	Data	
	Of authors of implementation	Of implementing organizations
Immunehistochemistry of biopsy samples of liver	The advantage of the proposed method is the possibility of morphological determination in liver of HBV/HIV-infected individuals and early prediction liver fibrosis progression	

8. Comments, suggestions: The proposed method is to be widely implemented in infectious hospitals
9. Responsible for implementation: Soni S., Head clinical Care, HoD IMED

«28» 06 2019

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Головний лікар
Хмельницької міської
інфекційної лікарні
Підубона О. В.
_____
Керівник установи, де проведено впровадження
«17» 06 2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

найменування пропозиції для впровадження[1]

1. Спосіб визначення рівня IL-17A в сироватці крові хворих з ХГВ на тлі ВІЛ - інфекції в якості предикторів формування фіброзу печінки.

2. Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, С. Ч. Соні, Л. В. Мороз
установа, що розробила, її поштова адреса, прізвище, ім'я по батькові авторів[2]

3. Джерело інформації: Moroz L., Soni S., Dudnik V., Zaichko N. Predictive value of serum IL-17A and IP-10 content for liver fibrosis progression in patients with HBV/HIV co-infection. *Georgian medical news*. 2019. № 290. С.73-77.
назва, рік видання методичних рекомендацій, інформаційного листа, вихідні дані статті, № а.с. і т.п.[2]

4. Впроваджено: Хмельницька міська інфекційна лікарня
найменування лікувально-профілактичного закладу[4]

5. Термін впровадження[4]: 1 місяць.
6. Загальна кількість спостережень[4] 94 (дев'яносто чотири)

7. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями викладеними у джерелі інформації (п.3)

Показники[5]	За даними	
	авторів, які пропонують впровадження	організації, що впровадила[4]
Рівень IL-17A в сироватці крові.	Перевага запропонованого способу полягає у можливості виділення групи хворих з вираженим фіброзом та цирозом печінки (F3 - F4) методом визначення рівня IL-17A в сироватці крові як неінвазивного маркера фіброза.	

8. Зауваження, пропозиції[4]: запропонований спосіб доцільно широко впроваджувати в інфекційних стаціонарах.
9. Відповідальний за впровадження: завідуюча відділенням для лікування дорослих хворих Дунець Ж. Л.

«17» 06 2019 р.

1 Узагальнені акти впровадження затверджує заст. завідуючого відділом охорони здоров'я.
2 Заповнюється розробником.
4 Заповнюється організацією, яка впровадила розробку.
5 В акт вдруковується тільки ті показники, яким відповідає дана розробка.