

SUMMARY

*I. S. Moiseev, E. A. Burmina, A. V. Botina,
M. O. Popova, A. R. Muslimov, O. G. Smykova,
K. V. Lepik, K. V. Melsitova, A. I. Shakirova,
I. M. Barkhatov, V. V. Baikov, O. V. Galibin*

Development of murine model of allogeneic bone marrow transplantation and graft-versus-host disease

Modeling of allogeneic bone marrow transplantation and graft-versus-host disease (GVHD) plays a crucial role in the improvement of transplantation procedures and testing novel immunosuppressive drugs. In this study we evaluated the feasibility of busulfan and cyclophosphamide conditioning with post-

transplantation cyclophosphamide (150 mg/kg) in donor-recipient pairs C57Bl/6-Balb/c and Balb/c-C57Bl/6. We observed that Balb/c mice as opposed to C57Bl/6 mice can't be the recipients because of the unacceptably high acute mortality from acute toxicity of chemotherapeutic drug. Histological studies in the C57Bl/6 recipients revealed acute GVHD in 93 % of animals. All animals had only grade I–II severity of GVHD. This model has the potential for future studies in the field of transplantology, nonetheless a decrease in the intensity of prophylaxis is required to augment the manifestations of GVHD.

Key words: bone marrow transplantation, graft-versus-host disease, GVHD, busulfan, cyclophosphamide, C57Bl/6, Balb/c.

© Коллектив авторов, 2016 г.
УДК 616-089.843 : 575

**И. М. Бархатов, А. И. Шакирова,
А. В. Евдокимов, О. Г. Смыкова,
Д. Е. Ершов, Л. С. Зубаровская,
Б. В. Афанасьев**

InDel-ПОЛИМОРФИЗМ В КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКЕ ПОСТ-ТРАНСПЛАНТАЦИОННОГО ХИМЕРИЗМА

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова

ВВЕДЕНИЕ

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК) является радикальным методом лечения ряда онкологических и наследственных заболеваний, обеспечивающим частичную или полную замену популяции гемопоэтических клеток пациента. При этом имеет значение не только сам факт приживления клеток донора, но и кинетика данного процесса, что определяет необходимость разработки чувствительных и воспроизводимых методов исследования. Среди существующих подходов определения донорского химеризма (соотношение клеток донора и реципиента) можно отметить методы, связанные с оценкой выявляемых у реципиента групп крови, выполняемые с использованием стандартного набора антител системы АВ0 [4]. Однако данный подход, несмотря на свою простоту, не позволяет оценить точное соотношение клеток донора и реципиента, предполагает субъективную оценку результатов, а также не информативен в раннем посттрансплантационном периоде.

В ряде работ применялся метод с использованием проточной цитофлуорометрии, базирующийся на выявлении различных вариантов антигенов

главного комплекса гистосовместимости (HLA) [5, 12]. Внедрение данного подхода, несмотря на возможность анализа линейного химеризма (оценка в различных субпопуляциях) клеток донора и высокую чувствительность, не может быть рекомендовано при родственной трансплантации и предполагает, как правило, наличие несовместимости по комплексу HLA.

Также методы стандартного кариотипирования и *in situ*-гибридизации (FISH) информативны лишь при разнополой трансплантации [3] и уступают молекулярно-генетическим методам исследованиям в чувствительности. Наиболее перспективным в оценке донорского химеризма (ДХ) является применение, с одной стороны, высокополиморфных маркеров, а с другой — подходов, характеризующихся высокой чувствительностью и специфичностью. В свою очередь, применение полимеразной цепной реакции позволило идентифицировать минорную популяцию гемопоэтических клеток реципиента, способных к инициации развития рецидива заболевания. Так, в настоящее время активно используются подходы, базирующиеся на амплификации сателлитных последовательностей коротких tandemных повторов (short tandem repeats, STR, и variable number tandem repeats, VNTR). Эти маркеры представляют собой многократно повторяющиеся (от 4 до 50 раз) последовательности [9] в некодирующей последовательности ДНК, что обеспечивает их полиморфность. Оценка результатов проводится методом гелеэлектрофореза, с использованием как электрофореза в камере, так и капиллярного электрофореза, обеспечивающего лучшую дискрецию сигнала и более высокую чувствительность. В свою очередь, часть из используемых маркеров была рекомендована для идентификации личности [2], также были разработаны рекомендации по выбору маркеров и интерпретации результатов ДХ [10].

С другой стороны, при анализе сателлитных последовательностей на чувствительность метода ока-

зывают влияние конкурентный характер ПЦР, особенно при проведении мультплексной реакции, позволяющей провести анализ одновременно по 25 маркерам. Также следует отметить, что при переходе ПЦР в фазу плато количество образующегося продукта не всегда эквивалентно начальной концентрации ДНК матрицы, что также может вносить определенную погрешность в количественное определение ДХ.

Метод, предполагающий оценку результатов методом ПЦР в реальном времени, обеспечивающий более высокую чувствительность исследования, также может быть использован при оценке ДХ [7]. В данном случае мишенями для идентификации клеток донора и реципиента являются биаллельные InDel (инсерции-делеции) полиморфизмы, расположенные в кодирующих областях [1]. Ключевым фактором в выборе возможных маркеров является высокий уровень гетерозиготности используемых маркеров. При разработке диагностической системы используют прямые аллель-специфичные праймеры с универсальными обратными праймерами и зондами, при этом для поиска информативного маркера используют, по меньшей мере, по 20 – 25 пар праймеров.

Целью работы является оценка аналитической чувствительности двух подходов – анализа STR- и InDel-полиморфизмов с последующей разработкой показаний для их применения в клинической практике.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

ДНК клеточной линии K562 и ДНК здорового донора были выделены с использованием набора К-Сорб («Синтол», Россия). Концентрация ДНК оценивалась на спектрофотометре NanoDrop (ThermoFisher Scientific).

Также были подготовлены 8 разведений ДНК, содержащих:

- 100 % ДНК клеточной линии K562;
- 100 % ДНК донора;
- 50 % ДНК клеточной линии и 50 % ДНК донора;
- 10 % ДНК клеточной линии и 90 % донора;
- 5 % ДНК клеточной линии и 99 % донора;
- 1 % ДНК клеточной линии и 99 % донора;
- 0,1 % ДНК клеточной линии и 99,9 % донора;
- 0,01 % ДНК клеточной линии и 99,99 % донора.

Для выявления информативного маркера использовали STR-маркеры vWA, D18S51, D3S1358, Penta E, TPOX, THO1, расположенные на различных хромосомах (табл. 1).

Амплификация STR-маркеров проводилась в $\times 2,5$ ПЦР-реакционной смеси («Синтол»). Последовательности праймеров, используемых в исследовании, и протокол амплификации были взяты из ряда предшествующих публикаций [6, 8]. В реакцию вносили 100 нг геномной ДНК.

Таблица 1
Описание STR-локусов, используемых в исследовании

| Маркер | Хромосома | Реф. номер GenBank | Реф. аллель GenBank | Структура единицы повтора реф. аллеля |
|---------|-----------|--------------------|---------------------|---------------------------------------|
| vWA | 12p13.31 | M25858 | 18 | [AGAT] |
| D18S51 | 18q21.33 | AP001534 | 18 | [GAAA] |
| D3S1358 | 3p21.31 | NT005997 | 18 | [AGAT] |
| Penta E | 15q26.2 | AC027004 | 10 | [AAAGA] |
| TPOX | 2p25.3 | M68651 | 11 | [AATG] |
| THO1 | 11p15.5 | D00269 | 9 | [AATG] |

После проведения амплификации анализ продуктов ПЦР проводился методом капиллярного гель-электрофореза в секвенаторе 3500xL (Applied Biosystems) с последующим анализом фрагментов с помощью программного обеспечения «GeneMarker» (Soft Genetics, США). В качестве информативных рассматривались маркеры с несовпадением аллелей у донора и клеточной линии. При оценке количественных значений доли клеток проводился анализ площади под образующимися пиками. Расчет проводился с использованием формулы:

$$\text{химеризм, \%} = \left(\frac{\text{сумма площади пиков донора}}{\text{сумма площадей всех пиков донора и клеточной линии}} \right) \cdot 100\% [11].$$

С целью выявления информативных InDel-полиморфизмов проводился анализ полиморфизмов, предложенных в статье М. Alizadeh [1]. Генотипирование проводили по всем предложенным в работе 11 маркерам. Амплификация продуктов проводилась с использованием мастер-микса Gene Expression Master Mix (Applied Biosystems, США).

Параметры ПЦР: 2 мин при 50 °С, 10 мин при 95 °С с последующей амплификацией продуктов в течение 40 циклов (95 °С – 45 с, 60 °С – 60 с). В качестве информативных рассматривались маркеры с уровнем пороговой флуоресценции менее 26 цикла в одной ДНК и более 40 цикла – в другой. Исследование проводили в двух повторях с расчетом среднего арифметического для каждого маркера. Оценку количественных значений химеризма проводился с использованием формулы:

$$\text{химеризм, \%} = 2^{-\Delta\Delta C_t} \cdot 100\%,$$

где $\Delta\Delta C_t$ – разница между уровнями пороговой флуоресценции исследуемого маркера и гена HCK (референсный ген) в исследуемом образце разведения и в образце ДНК тестируемого здорового донора [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате типирования для анализа были выбраны информативные маркеры STR – vWA, D18S51, D3S1358, Penta E. При анализе различий InDel-полиморфных вариантов использовались маркеры S03 и S04a с последующей оценкой их амплификации в различных разведениях. Данные типирования донора и клеточной линии приведены в табл. 2.

Таблица 2

Результаты типирования InDel-полиморфизмов донора и клеточной линии

| InDel | S01 B | S02 | S03 | S04 A | S04 B | S05 A | S05 B | S06 B | S07 A | S07 B | S08 A | S08 B | S09 A | S09 B |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 562, Ct | ND | ND | 24,42 | 22,25 | ND | 27,23 | ND | ND | ND | 22,7 | 22,8 | 22,72 | 22,88 | ND |
| Донор, Ct | 26,83 | 26,83 | ND | ND | 27,09 | 26,99 | ND | ND | ND | 26,8 | 28,3 | 26,97 | 26,66 | ND |

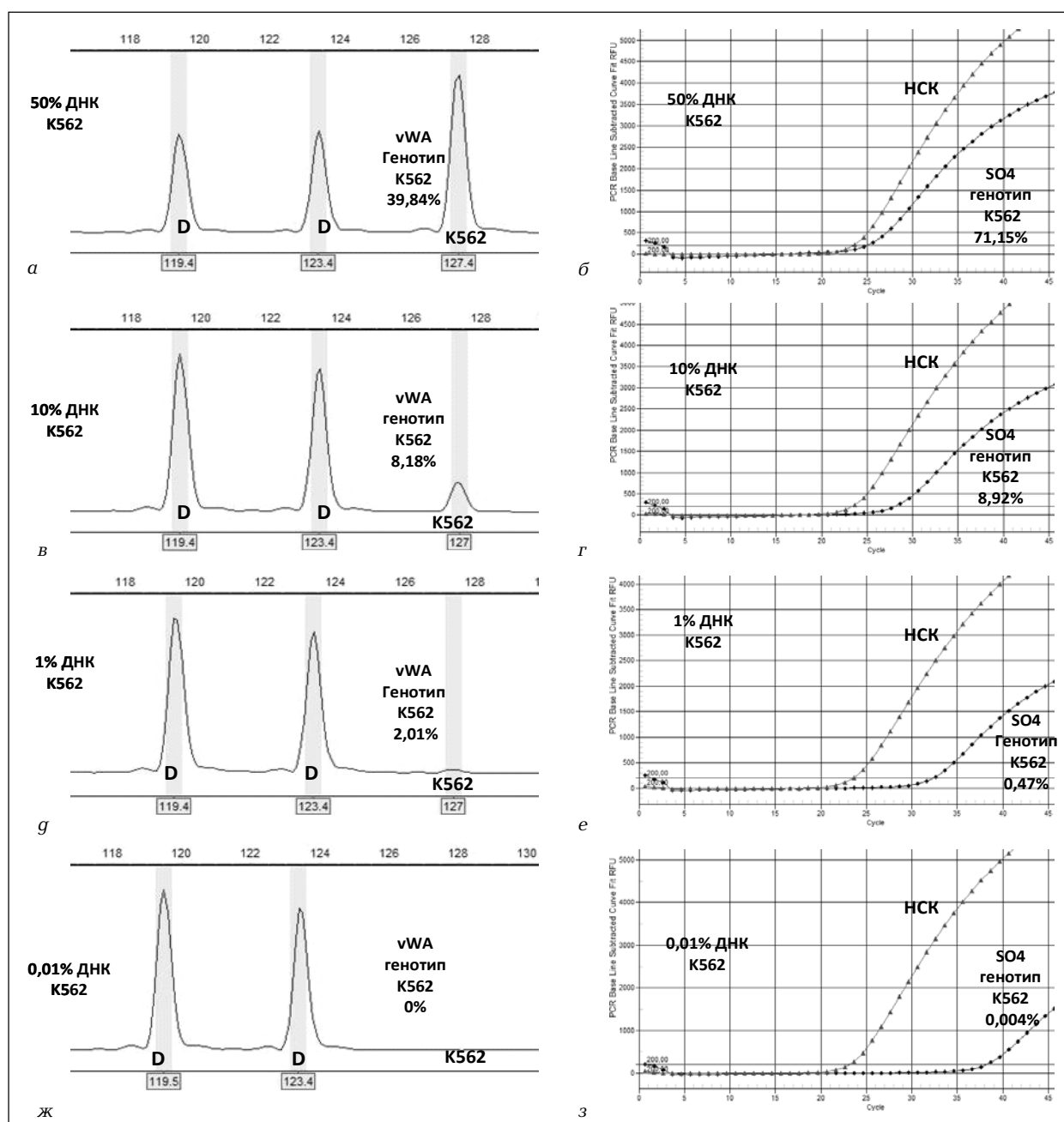


Рис. 1. Сравнение STR- и InDel-PCR-методов определения уровня донорского химеризма. ДНК здорового донора и клеточной линии K562 смешивались в соотношениях 50, 10, 5, 1, 0,5, 0,1, 0,05, 0,01 %. Уровень химеризма оценивался в данных пробах методами фрагментного анализа амплифицированных STR-повторов и количественной ПЦР с оценкой продуктов в режиме реального времени. На панелях а, в, г и ж показаны результаты четырех ДНК-разведений по STR-маркеру hWFA. Площадь под пиками аллелей клеточной линии (K562) и здорового донора (D) пропорциональны соответствующим ДНК-разведениям. Панели б, г, е и з демонстрируют результаты, полученные методом количественной ПЦР на четырех ДНК-разведениях (до разведения 0,01 %). Кривая амплификации специфичной для клеточной линии K562 аллеля S04a сдвигается вправо относительно кривой амплификации гена домашнего хозяйства (HCK) пропорционально соответствующему разведению ДНК. Причем чувствительность детекции минорного донорского генотипа выше в сравнении с результатами фрагментного анализа (сравнение панелей ж и з)

Результаты сравнительного анализа определения ДХ методом анализа STR- и InDel-полиморфизма показаны на рис. 1.

По данным анализа разведений ДНК эффективность реакции составила 100 %, коэффициент корреляции — 0,991 (рис. 2).

При анализе чувствительности исследуемых маркеров было выявлено, что для STR-маркеров минимальным значением выявляемой генетически-гетерогенной популяции является 1 %, в то время как чувствительность системы, базирующейся на анализе InDel-маркеров, достаточна для выявления 0,01 % минорной популяции клеток. При постановке реакции вносили 100 нг ДНК, что эквивалентно 15 000 клеткам, исходя из среднего содержания 6,6 пг ДНК в клетке. Таким образом, расчетное значение чувствительности данной системы составляет 0,007 %.

При оценке результатов исследования обращает на себя внимание различие в амплификации InDel-маркеров — 71,15 % по S04a против 27,81 % по S03 в двухкратном разведении ДНК клеточной линии (табл. 3). Подобная тенденция сохраняется и в других разведениях. Это обусловлено тем, что допустимая вариативность в 0,5 Ct может интерпретироваться как изменение концентрации ДНК

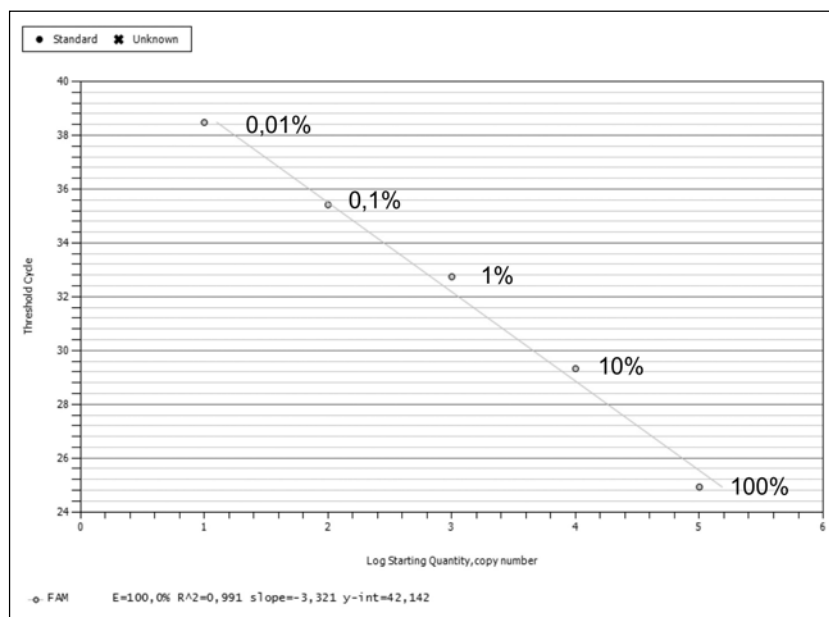


Рис. 2. Линейная зависимость между разведением и порогом амплификации (метод InDel-ПЦР)

(значений ДХ) на 50 %, что, в свою очередь, является недопустимым при оценке ДХ в интервале от 5 до 95 %.

При анализе ДХ по STR-локусам также наблюдается варибельность значений при использовании различных маркеров: так, при оценке 50 % разведения значения ДХ колебались от 39,84 до 44 %, что обуславливает необходимость проведения исследования ДХ, по меньшей мере, по 3 маркерам. Коэффициент вариации, составивший для STR-ло-

Сопоставление данных исследования ДХ на основе оценки STR- и InDel-полиморфизма

Таблица 3

| QR PCR | | | | | | | |
|---------------------------------|-------|--------|--------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|
| % донорской ДН | S03 | S04a | ср. значение | ст. отклонение | коэфф. вариации | | |
| 50,00 | 27,81 | 71,15 | 49,48 | 21,67 | 0,44 | | |
| 10,00 | 3,96 | 8,92 | 6,44 | 2,48 | 0,39 | | |
| 5,00 | 1,48 | 2,28 | 1,88 | 0,40 | 0,21 | | |
| 1,00 | 0,26 | 0,47 | 0,36 | 0,11 | 0,29 | | |
| 0,50 | 0,10 | 0,26 | 0,18 | 0,08 | 0,43 | | |
| 0,10 | 0,04 | 0,05 | 0,04 | 0,01 | 0,17 | | |
| 0,05 | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,00 | 0,17 | | |
| 0,01 | 0,01 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,11 | | |
| STR-PCR (HΔ – не детектируется) | | | | | | | |
| % донорской ДН | WFA | D18S51 | D3S1358 | PENTA E | ср. значение | ст. отклонение | коэфф. вариации |
| 50,00 | 39,84 | 43,98 | 44,58 | 41,25 | 42,41 | 1,94 | 0,05 |
| 10,00 | 8,18 | 8,20 | 8,57 | 3,50 | 7,11 | 2,09 | 0,29 |
| 5,00 | 5,57 | 4,67 | 4,91 | 3,87 | 4,76 | 0,61 | 0,13 |
| 1,00 | 2,01 | 1,61 | 1,34 | HΔ | 1,65 | 0,28 | 0,17 |
| 0,50 | 1,49 | HΔ | HΔ | HΔ | 1,49 | | |
| 0,10 | HΔ | HΔ | HΔ | HΔ | HΔ | | |
| 0,05 | HΔ | HΔ | HΔ | HΔ | HΔ | | |
| 0,01 | HΔ | HΔ | HΔ | HΔ | HΔ | | |

кусов от 0,05 до 0,29, сопоставим лишь с результатами по InDel, полученными при анализе разведения от 0,01 до 5 %.

Тем не менее оба подхода предоставляют возможность получить сопоставимые результаты — коэффициент корреляции средних значений химеризма составил 0,999 (критерий Пирсона).

Исследование донорского химеризма необходимо для оценки вероятностного риска отторжения трансплантата — явления, сопровождающегося снижающимися в динамике значениями ДХ, что, в свою очередь, является показанием к проведению иммуноадаптивной терапии в посттрансплантационном периоде. Известно, что инфузия лимфоцитов от того же донора целесообразна при наличии, как минимум, 30 % трансплантированных клеток, что указывает на необходимость получения прецизионных значений ДХ в этом диапазоне. Таким образом, в силу необходимости длительного подбора биаллельного информативного маркера, а также того факта, что клинически значимые значения ПЦР в реальном времени находятся вне линейного диапазона реакции и характеризуются высокой вариабельностью, анализ, основанный на оценке InDel-полиморфизма, наиболее целесообразно проводить с целью идентификации остаточных количеств гемопоэтических клеток донора, способных инициировать развитие рецидива заболевания. В то же время анализ полиморфизма STR-локусов более информативен при рутинном мониторинге значений химеризма донора от 5 до 95 %. Вместе с тем следует отметить, что в костном мозге до 1 % представлено клетками стромы, которые не замещаются при аллотКМ, что нивелирует целесообразность применения высокочувствительных методов исследования. Однако данный подход, предположительно, может быть использован при проведении предварительной селекции различных типов клеток, например, CD34-положительных предшественников гемопоэза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на более высокую чувствительность, наличие ограничений в оценке количественных значений уровня донорского химеризма с использованием InDel-полиморфизмов указывает на целесообразность применения данного подхода только при оценке остаточных популяций клеток реципиента после трансплантации, в то время как анализ высокополиморфных STR-маркеров позволяет оценивать более прецизионно значения донорского химеризма в интервале от 5 до 95 %, что является более значимым в посттрансплантационном мониторинге.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 16-54-00198.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alizadeh M., Bernard M., Danic B. et al. Quantitative assessment of hematopoietic chimerism after bone marrow transplantation by real-time quantitative polymerase chain reaction // *Blood*. — 2002. — Vol. 99. — № 12. — P. 4618–4625.
2. Allor C., Einum D. D., Scarpetta M. Identification and characterization of variant alleles at CODIS STR loci // *J. Forensic Sci.* — 2005. — Vol. 50. — № 5. — P. 1128–1133.
3. Alpar D., Nagy G., Hohoff C. et al. Sex chromosome changes after sex-mismatched allogeneic bone marrow transplantation can mislead the chimerism analysis // *Pediatr. Blood Cancer*. — 2010. — Vol. 55. — № 6. — P. 1239–1242.
4. Bolan C. D., Leitman S. F., Griffith L. M. et al. Delayed donor red cell chimerism and pure red cell aplasia following major ABO-incompatible nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation // *Blood*. — 2001. — Vol. 98 — № 6. — P. 1687–1694.
5. Choe W., Hwang M. A., Jang S. et al. Establishing a population-based HLA-antibody panel for flow cytometric monitoring of chimerism in HLA-haploidentical stem cell transplantation // *Ann. Clin. Lab. Sci.* — 2016. — Vol. 46. — № 2. — P. 161–167.
6. Ensenberger M. G., Hill C. R., McLaren R. S. et al. Developmental validation of the PowerPlex® 21 System // *Forensic Sci. Int. Genet.* — 2014. — Vol. 9. — № 1. — P. 169–178.
7. Fehse B., Chukhlovina A., Kuhlcke K. et al. Real-time quantitative Y chromosome-specific PCR (QYCS-PCR) for monitoring hematopoietic chimerism after sex-mismatched allogeneic stem cell transplantation // *J. Hematother. Stem Cell Res.* — 2001. — Vol. 10. — № 3. — P. 419–425.
8. Krenke B. E., Tereba A., Anderson S. J. et al. Validation of a 16-locus fluorescent multiplex system // *J. Forensic Sci.* — 2002. — Vol. 47. — № 4. — P. 773–785.
9. Kristt D. Assessing quantitative chimerism longitudinally: technical considerations, clinical applications and routine feasibility // D. Kristt, J. Stein, I. Yaniv, T. Klein // *Bone Marrow Transplant.* — 2007. — Vol. 39. — № 5. — P. 255–268.
10. Lion T., Watzinger F., Preuner S. et al. The EuroChimerism concept for a standardized approach to chimerism analysis after allogeneic stem cell transplantation // *Leukemia*. — 2012. — Vol. 26. — № 8. — P. 1821–1828.
11. Nollet F. Standardisation of multiplex fluorescent short tandem repeat analysis for chimerism testing. / F. Nollet, J. Billiet, D. Selleslag, A. Criel // *Bone Marrow Transplant.* — 2001. — Vol. 28. — № 5. — P. 511–518.
12. Schumm M., Feuchtinger T., Pfeiffer M. Flow cytometry with anti HLA-antibodies: a simple but highly sensitive method for monitoring chimerism and minimal residual disease after HLA-mismatched stem cell transplantation // *Bone Marrow Transplant.* — 2007. — Vol. 39. — № 12. — P. 767–773.

РЕЗЮМЕ

И. М. Бархатов, А. И. Шакирова, А. В. Евдокимов, О. Г. Смыкова, Д. Е. Ершов, Л. С. Зубаровская, Б. В. Афанасьев

InDel-полиморфизм в количественной оценке посттрансплантационного химеризма

Ключевыми критериями эффективности аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) являются снижение уровня минимальной остаточной болезни до неопределяемых значений и приживление трансплантируемых клеток с полным замещением гемопоэза реципиента — так называемым посттрансплантационным химеризмом. Среди многообразия применяемых методик определенными преимуществами обладают моле-

кулярно-генетические методы исследований, базирующиеся на анализе высокополиморфных участков ДНК — коротких таандемных повторов (short tandem repeats, STR). Однако данный подход, несмотря на высокую информативность, обладает ограниченной чувствительностью. В этой связи представляется целесообразным внедрение более чувствительных диагностических решений, в частности, анализа InDel-полиморфизма, с последующим выявлением продуктов ПЦР в режиме реального времени. При анализе ряда маркеров были получены данные, свидетельствующие о более высокой чувствительности данного метода, однако наличие отклонений в оценке соотношений клеток в интервале от 10 до 90 % указывает на целесообразность использования данного подхода лишь при оценке остаточной популяции клеток реципиента.

Ключевые слова: химеризм, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, микросателлитные повторы, InDel полиморфизмы, STR-локусы.

SUMMARY

I. M. Barkhatov, A. I. Shakirova, A. V. Evdokimov, D. E. Ershov, O. G. Smykova, L. S. Zubarovskaya, B. V. Afanasyev

InDel-polymorphisms in quantitative posttransplant chimerism evaluation

Reduction of minimal residual disease to undetectable levels is the key criterion for efficiency of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (alloHSCT), along with engraftment of transplanted cells with complete replacement of recipient hematopoiesis, i. e., full post-transplant chimerism. Among different approaches, molecular genetic techniques are preferable, being based on the analysis of highly polymorphic DNA sequences (short tandem repeats, STRs). However, this approach, despite its high specificity, has a limited sensitivity. In this regard, it seems appropriate to introduce more sensitive diagnostic solutions, in particular, analysis of insertion/deletion (InDel) polymorphisms, followed by real-time detection of PCR products. The data obtained upon analysis of several genetic markers have shown higher sensitivity of this method. However, the deviations in the range of 10 to 90 % in evaluation of the cell ratios indicates the feasibility of using this approach just to evaluate the residual populations of recipient cells.

Keywords: chimerism, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, INDEL polymorphisms, STR markers.

© Н. С. Жевнерова, Т. В. Антонова, В. А. Ковалева, 2016 г.
УДК 616.36-002.1-074

**Н. С. Жевнерова, Т. В. Антонова,
В. А. Ковалева**

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С НА РАННИХ СРОКАХ РАЗВИТИЯ

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова

ВВЕДЕНИЕ

Лидером среди хронических вирусных заболеваний печени является хронический гепатит С (ХГС), который остается неуправляемой инфекцией. Анализ современной эпидемиологической ситуации позволяет считать, что в России проживает не менее 3 млн больных ХГС, а маркеры инфекции HCV имеются у 4 млн человек [6].

В практике редко удается выявить острый гепатит С, который в подавляющем большинстве случаев протекает субклинически или в стертой форме и, почти закономерно, становится фазой развития хронической инфекции. Преимущественно впервые заболевание выявляется уже в стадии хронического гепатита, особенностью которого также служит длительное скрытое течение. Это объясняет отсутствие повода для обращения за медицинской помощью, что нередко приводит

к поздней диагностике и, при полноценном обследовании, выявлению ХГС уже на далеко зашедших стадиях заболевания, в частности цирротической. В то же время не исключается возможность длительного торпидного течения гепатита с минимальными темпами прогрессирования фиброза печени.

Одной из важных проблем клинической практики является определение индивидуального прогноза течения ХГС, который во многом зависит от объективной оценки выраженности и темпов развития фиброза печени. Наличие фиброза печени успешно оценивается по результатам биопсии или с помощью неинвазивных методов.

В настоящее время известны многие маркеры, используемые в так называемых комплексных фиброзных панелях для неинвазивной диагностики фиброза: гиалуроновая кислота, коллагены-4 и -6, матриксные металлопротеиназы и тканевой ингибитор металлопротеиназы-1, альфа-2-макроглобулин, гаптоглобин и др. [1, 3]. Тем не менее, продолжается поиск других сывороточных маркеров, отражающих не только наличие, но и процесс развития фиброза печени. Гликопротеин галектин-3 признан медиатором воспаления и фиброза, роста и пролиферации фибробластов различных тканей [5]. Соответственно, этот показатель может рассматриваться как индикатор активности хронического воспаления с нарушением функции гепатоцитов и, как следствие, разрастания нефункциональной соединительной ткани в печени [8, 9], что согласуется с информацией о его роли в про-