

ХАРАКТЕРИСТИКА РЕГЕНЕРАТОРНОЙ СПОСОБНОСТИ ПЕЧЕНИ (ПО ЭКСПРЕССИИ КИ-67) У БОЛЬНЫХ С НЕБЛАГОПРИЯТНЫМИ ИСХОДАМИ ХРОНИЧЕСКИХ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ

¹Новак К.Е., ²Карев В.Е., ^{3,1}Дунаева Н.В., ^{1,3}Эсауленко Е.В.

¹Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия,
Санкт-Петербург, e-mail: kseniya.novak@mail.ru;

²Клиническая инфекционная больница им. С.П. Боткина, Санкт-Петербург;

³ФГБУ НИИ гриппа Минздрава России, Санкт-Петербург

В последние десятилетия наиболее часто для изучения пролиферативной активности клеток используется Ki-67 – белковый комплекс, определяющийся только в ядрах пролиферирующих клеток. В исследовании проведено сравнение уровня экспрессии Ki-67 в ткани печени больных циррозом вирусной этиологии, хроническим вирусным гепатитом, гепатоцеллюлярной карциномой и соматической патологией без признаков поражения печени ($n = 60$). Определено, что пролиферация гепатоцитов, уровень которой отражает регенераторный потенциал печени, зависит от этиологии хронического вирусного гепатита (В или С) и стадии патологического процесса (хронический гепатит, цирроз печени или гепатоцеллюлярная карцинома).

Ключевые слова: цирроз печени, гепатит, гепатоцеллюлярная карцинома, регенерация, Ki-67

CHARACTERISTICS OF LIVER REGENERATION ABILITY (BY KI-67 EXPRESSION) OF PATIENTS WITH ADVERSE OUTCOMES OF CHRONIC VIRAL HEPATITIS

¹Novak K.E., ²Karev V.E., ^{3,1}Dunaeva N.V., ^{1,3}Esaulenko E.V.

¹Saint-Petersburg State Pediatric Medical Academy, Saint-Petersburg, e-mail: kseniya.novak@mail.ru;

²S.P. Botkin Clinical Infectious Hospital, Saint-Petersburg;

³Ministry of health and social development of the Russian Federation, Research Institute of Influenza, Saint-Petersburg

In recent decades in order to study the proliferative activity of cells, Ki-67 is the most frequently used. It's a protein complex, which can be determined only in proliferating cell nucleus. In this research, a comparison of Ki-67 expression level in liver tissue was made between patients with cirrhosis of viral etiology, chronic viral hepatitis, hepatocellular carcinoma and somatic pathology without any signs of liver damage ($n=60$). It was determined that hepatocytes proliferation, which level reflects regenerative potential of the liver, depends on etiology of chronic viral hepatitis (B or C) and stage of pathological process (chronic hepatitis, liver cirrhosis or hepatocellular carcinoma).

Keywords: liver cirrhosis, hepatitis, hepatocellular carcinoma, regeneration, Ki-67

Регенерация является защитной реакцией печени в ответ на её повреждение и определяется как комплекс жестко регулируемых физиологических процессов пролиферации гепатоцитов и непаренхиматозных клеток, приводящих к восстановлению нарушенной функции органа после его повреждения. Изменение баланса между пролиферацией печеночных клеток и их гибелью может лежать в основе формирования цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК). В последние десятилетия активно ведётся поиск универсальных маркёров пролиферативной активности гепатоцитов. Одним из наиболее достоверных маркеров на сегодняшний день признан белок Ki-67, являющийся ядерным белковым комплексом с молекулярной массой 345–395 кДа [1]. Реакция с моноклональными антителами к Ki-67 позволяет определить количество клеток, подвергшихся делению, поскольку белок экспрессируется только в ядрах про-

лиферирующих клеток и выявляется в G1 (в конце фазы), G2, S и M-фазах клеточного цикла с максимальной экспрессией в фазах G2 и M [1]. К настоящему моменту в печати опубликовано большое количество работ, посвящённых выявлению Ki-67 при различных видах опухолей. Имеющиеся исследования с применением Ki-67 для оценки состояния печени у больных вирусными гепатитами пока в недостаточной степени характеризуют особенности регенерации органа в зависимости от этиологии и стадии процесса (цирроз печени, предцирротическая стадия (фиброз 3), ГЦК).

В связи с чем целью проведённого исследования было сравнение регенераторной способности печени (по оценке экспрессии Ki-67 в гепатоцитах) у больных в цирротической стадии хронических вирусных гепатитов различной этиологии (В, С, В + С), больных хроническим вирусным гепатитом без признаков цирроза и больных ГЦК.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 35 больных с подтвержденной посмертно (морфологически) цирротической стадией хронического вирусного гепатита, умерших в клинической инфекционной больнице №30 им. С.П.Боткина в 2004–2007 гг.

Клинические методы исследования включали анализ истории болезни с целью регистрации пола, возраста на момент включения больного в исследование (лет), наличия систематического употребления алкоголя в анамнезе. Гистологическую активность гепатита (индекс гистологической активности – ИГА) и стадию заболевания оценивали по методике, предложенной R.G. Knodell и соавт.[9]. Этиологическую принадлежность вирусного гепатита определяли прижизненным выделением специфических маркеров вирусов гепатитов В и С (HBsAg, HBcAb, HCVAb) из сыворотки крови методом твердофазного иммуноферментного анализа.

В качестве групп сравнения использовали биоптаты ткани печени больных хроническим гепатитом В (ХГВ) ($n = 5$) и С (ХГС) ($n = 5$) с высокой гистологической активностью (ИГА 13-18), с признаками прогрессирующего фиброза (F3), а также аутоптаты участков опухолевой ткани больных, умерших от ГЦК, развившейся на фоне цирротической стадии ХГВ ($n = 5$) и ХГС ($n = 5$). В качестве контрольной группы использовали аутоптаты печени 5 человек, умерших от соматических заболеваний без клинико-биохимических и морфологических признаков поражения печени.

Иммуногистохимические исследования выполняли в срезах залитой в парафин ткани печени, с использованием моноклональных мышиных антител к Ki-67 (клон MM1) в разведении 1/100 (NovocastraLab, UK) и системы детекции NovoLinkPolymerDetection SystemDAV (NovocastraLab., UK). Гепатоциты, экспрессирующие Ki-67, имели специфическую коричневую окраску ядер. Учет результатов осуществляли путем определения индекса пролиферативной активности гепатоцитов (отношения Ki-67 – позитивных гепатоцитов ко всем гепатоцитам) в 6 полях зрения: по три поля из перипортальных и по 3 поля из центральных отделов печеночных долек при увеличении $\times 400$.

Обработку первичных данных проводили с использованием программы SPSS 14.0. Характеристики выборок представлены в виде медианы (минимального значения/максимального значения). Для анализа качественных переменных использовали χ^2 -критерий Пирсона. Проверку закона распределения, при необходимости анализа количественных переменных, проводили при помощи теста Колмогорова-Смирнова, при необходимости с поправкой Лиллефорса, а также теста Шапиро-Уилка. В последующем в случае сравнения трёх групп, в связи с тем, что хотя бы одна из выборок имела отличное от нормального распределение, применяли критерий Краскела-Уоллиса. Для попарного сравнения выборок использовали U тест Манна-Уитни (точное 2-стороннее значение). Для определения силы связи между употреблением алкоголя и возрастом умерших использовали двухсторонний ранговый корреляционный анализ Спирмена. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы (об отсутствии различий и влияний) принимали равным 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

В обследованной группе умерших с циррозом печени вирусной этиологии ($n = 35$) 83% были моложе 60 лет, медиана возраста составила 49,0 лет (минимум – 26 лет, максимум 72 года), мужчин было 16 (46%) человек, женщин – 19 (54%). Хронический гепатит В выявлен у 17 больных (48%), ХГС – у 10 больных (29%), ХГВ + ХГС – у 8 больных (23%). Подгруппы больных с циррозами печени на фоне ХГВ, ХГС и ХГВ+ХГС достоверно не отличались между собой по полу (мужчин/женщин 6/11, 6/4 и 6/2, соответственно, $\chi^2 = 3,64$, $p = 0,162$) и возрасту (49(35/65), 47(26/68), 36(30/72) лет соответственно $p = 0,167$). Большая часть включённых в исследование систематически употребляли алкоголь (71,4%), употребление алкоголя обратно коррелировало с возрастом умерших пациентов ($r = -0,361$, $p = 0,033$).

Различные нозологические формы вирусного гепатита – ХГВ, ХГС и ХГВ+ХГС с исходом в цирроз при одинаковой гистологической активности гепатита (ИГА 13-18) характеризовались разной степенью пролиферативной активности гепатоцитов (рис. 1). Медиана показателя пролиферативной активности гепатоцитов у больных циррозом печени в исходе ХГВ (ХГВ-ЦП) составила 1,4 (0,4/12,46), в исходе ХГС (ХГС-ЦП) – 11,98 (1,6/19,7)%, при микст-циррозе печени (ХГВ+С-ЦП) – 3,0(0,3/18,97)%. При попарном сравнении групп с ХГВ-ЦП и ХГС-ЦП отмечена статистически значимая более высокая пролиферативная активность в последней группе ($p = 0,016$). Медиана индекса пролиферативной активности у пациентов с цирротической стадией микст-гепатитов статистически значимо не отличалась от пациентов ХГВ-ЦП ($p = 0,868$) и ХГС-ЦП ($p = 0,279$).

Сравнение индекса пролиферативной активности гепатоцитов у больных ХГВ с высокой гистологической активностью гепатита (ИГА 13-18) и признаками прогрессирующего фиброза (F3), составившего 9,7(3,2/10,8)%, с индексом пролиферативной активности гепатоцитов при ХГВ-ЦП, составившего 1,4 (0,4/12,46)%, показало достоверно более высокий уровень этого показателя у больных ХГВ ($p = 0,033$). Напротив, у больных ХГС с высокой гистологической активностью гепатита (ИГА 13-18) и признаками прогрессирующего фиброза (F3) индекс пролиферативной активности составил лишь 1,9 (0,8/4,1)%, что значимо ниже, чем при ХГС-ЦП ($p = 0,048$). Следует отметить, что индекс пролиферативной активности боль-

ных ХГВ, не достигших цирроза печени был достоверно выше, чем у больных ХГС, не достигших цирроза печени ($p = 0,016$)

при одинаково высокой гистологической активности гепатита (ИГА 13-18) в обеих группах.

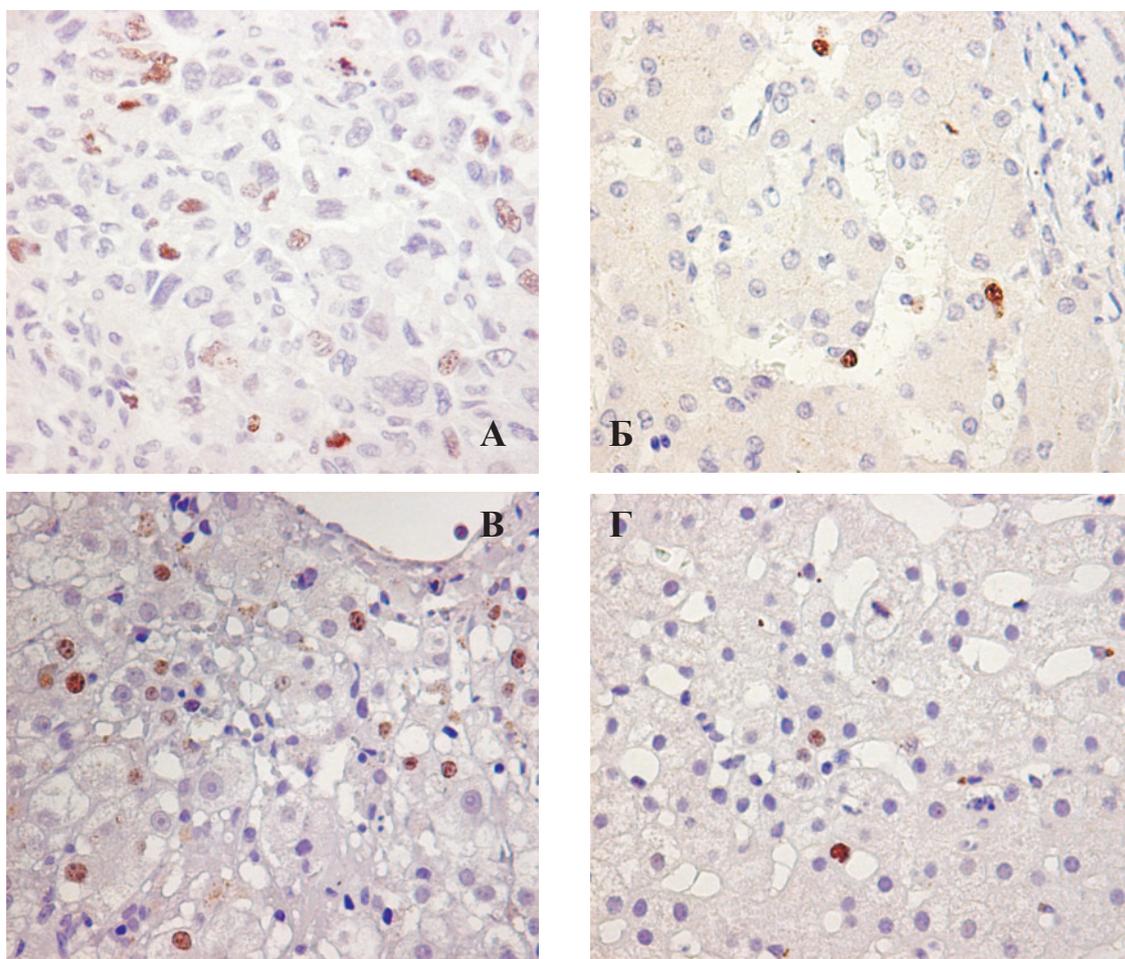


Рис. 1. Экспрессия Ki-67 в опухолевой ткани ГЦК на фоне ХГС (А), в ткани печени при ХГВ-ЦП (Б), ХГВ без признаков цирроза (В), в контрольном образце (Г). Иммуногистохимическая реакция, DAB, x400

Индекс пролиферативной активности клеток опухолевой ткани больных ГЦК, развившейся на фоне ХГВ-ЦП, составил 12,7 (10,0/18,0)% и был достоверно выше, чем в ткани печени у больных ХГВ ($p = 0,032$) и ХГВ-ЦП ($p = 0,002$). Пролиферативная активность клеток опухолевой ткани больных ГЦК, развившейся на фоне цирротической стадии ХГС, составила 46,0 (39,0/56,0)% и была значимо выше, чем при ГЦК, развившейся на фоне цирротической стадии ХГВ ($p = 0,009$), а также достоверно выше, чем у больных ХГС ($p = 0,032$) и больных, умерших от ХГС-ЦП ($p = 0,003$).

Показатель пролиферативной активности при различных исходах хронического гепатита представлен на рис. 2.

При сравнении пролиферативной активности печёночных клеток больных цирротической стадией ХВГ, систематически употреблявших алкоголь, 3,9 (0,3/19,7)% и пациентов без систематического употребления алкоголя в анамнезе 1,5 (0,3/18,27)% статистически достоверных различий не получено ($p = 0,129$).

Во всех исследованных группах по сравнению с контрольной группой больных, умерших от соматических заболеваний, в которой медиана индекса пролиферативной активности составила 1,4 (0/2,8)%, наблюдалась более высокая пролиферативная активность гепатоцитов, но статистической достоверности различия достигли только с группами больных ГЦК на фоне ХГВ ($p = 0,008$), ГЦК на фоне ХГС ($p = 0,008$), ХГВ ($p = 0,008$) и ХГС-ЦП ($p = 0,03$).

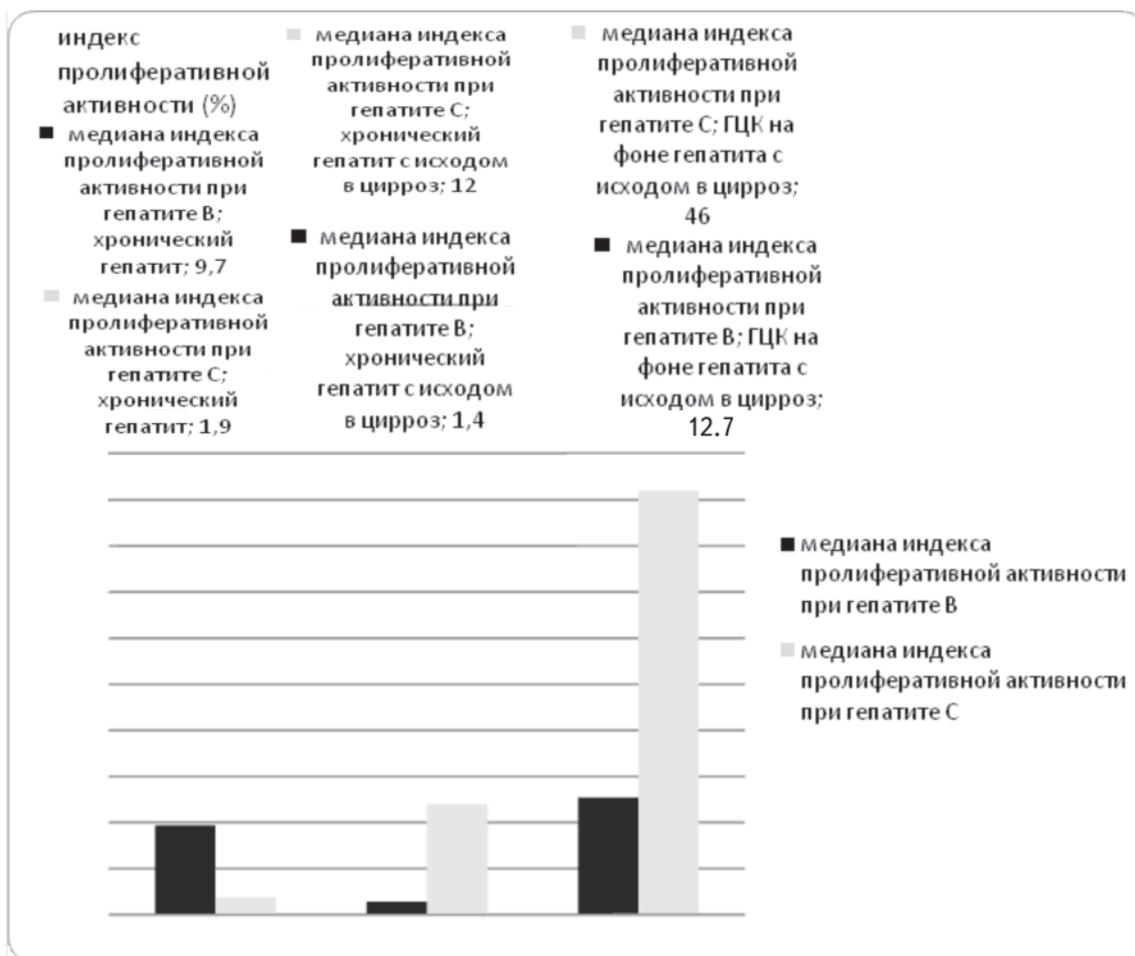


Рис. 2. Проллиферативная активность (по экспрессии Ki-67) гепатоцитов и клеток опухоли у больных хроническими гепатитами В и С при различных исходах патологического процесса (n = 47)

Результаты исследования и их обсуждение

Полученные нами на ограниченной выборке (n = 35) данные свидетельствуют, что естественная (при отсутствии противовирусной терапии) прогрессия хронических гепатитов В, С и В+С до стадии цирротической трансформации с наступлением летального исхода пришлась на трудоспособный возраст (83% умерших моложе 60 лет), медиана – 49 лет. При этом медиана возраста умерших от ХГВ + С-ЦП (36 лет) была на 11 и 13 лет меньше умерших от ХГВ-ЦП и ХГС-ЦП соответственно. Полученные результаты не противоречат проведённым ранее исследованиям, демонстрирующим ассоциацию развития цирроза с микстинфицированием гепатотропными вирусами [2, 12, 5, 18, 4], и могут свидетельствовать о более быстром прогрессировании патологических процессов в печени у данной группы пациентов. Вероятно, на скорость прогрессирования процесса негативно по-

влияло и злоупотребление алкоголем, имевшееся в анамнезе у большинства умерших, и обратно коррелировавшее с возрастом. В многочисленных, выполненных ранее исследованиях, употребление алкоголя ассоциировалось как с прогрессированием гепатита, так и с наступлением летального исхода [15, 4, 11, 16], в том числе, возможно, и за счёт установленного недавно *in vitro* эффекта усиления репликативной активности вируса этанолом [13].

В данной выборке не было выявлено явного преобладания мужчин или женщин среди умерших от цирроза печени (46 и 54% соответственно), не было гендерных различий и в подгруппах по нозологии цирроза. Литературные сведения на эту тему противоречивы. Так, J.-F. Cadranetal [5], изучая факторы риска развития цирроза у 1166 HBsAg позитивных пациентов различных госпиталей Франции, значимой связи с полом не выявили, однако, при преобладании мужчин в целом среди инфицирован-

ных, женщин в группе пациентов с циррозом было больше. Сходные результаты были получены В.К. Parketal [14] и J.I. Weissbergetal [17]. Т. Poynardetal, в 2001 г. [15] у пациентов с хроническим гепатитом С выявили ассоциацию прогрессии заболевания до цирротической стадии с мужским полом. Наши данные свидетельствуют о практически равном распределении умерших от цирроза печени по половому признаку: при анализе медицинской документации всех умерших от хронических гепатитов моновирусной этиологии в цирротической стадии в Клинической инфекционной больнице им С.П. Боткина г. Санкт-Петербурга за 2006–2009 гг., показано, что 52% умерших были мужского, а 48% – женского пола (исследование не представлено), что не противоречит результатам, полученным в представляемом исследовании.

В условиях физиологической нормы гепатоциты постоянно подвергаются обновлению посредством апоптоза с последующей элиминацией. Восстановление популяции гепатоцитов характеризуется повышением их пролиферативной активности и восстановлением внутриорганного гомеостаза. В условиях патологии уровень пролиферативной активности гепатоцитов при сохраненных механизмах регуляции теоретически должен соответствовать тяжести повреждения. Несоответствие уровня пролиферации гепатоцитов тяжести повреждения может свидетельствовать о нарушении регуляторных механизмов, что, с одной стороны, может приводить к нарушению функции органа, а с другой стороны, – к неконтролируемому клеточному росту, лежащему в основе развития гепатоцеллюлярной карциномы. Проллиферативная активность гепатоцитов при ХГВ, как было показано в предшествующих исследованиях [3], имеет достоверную тенденцию к возрастанию по мере увеличения повреждения в виде нарастания цитолиза и возрастания гистологической активности гепатита, достигая максимума на высоте повреждения (индекс пролиферативной активности коррелирует с ИГА). Цирротическая трансформация печени с декомпенсацией характеризуется крайне низкой пролиферативной активностью гепатоцитов. Максимальные значения индекса пролиферативной активности регистрируются в ткани ГЦК, развившейся на фоне цирротической стадии ХГВ [3]. Данные, полученные в обсуждаемой выборке, подтверждают такие закономерности, отражая относительную сохранность регенераторного потенциала печени на этапе хронического вирусного гепатита В в ответ на тяжелое повреждение. Снижение регене-

раторной способности печени при ХГВ-ЦП отражает нарушение регуляторных механизмов и при сохраняющемся высоком уровне повреждения (ИГА 13–18 баллов) ведёт к развитию печеночной недостаточности.

Обратные тенденции мы наблюдали при ХГС и ХГС-ЦП, когда выраженное повреждение печеночной ткани (ИГА 13–18 баллов) у больных ХГС вызывало низкую пролиферацию гепатоцитов, достоверно возрастающую на этапе ХГС-ЦП. Индекс пролиферативной активности гепатоцитов у больных ХГВ-ЦП был достоверно ниже, чем у больных ХГС-ЦП. Подобная разнонаправленность процессов требует детального изучения. Возможно, именно разница в характере пролиферативной активности при гепатитах В и С лежит в основе разной частоты хронизации, влияет на темп прогрессирования и частоту развития ГЦК. Следует, однако, отметить, что в более раннем исследовании, включавшем 40 больных ХГВ-ЦП и 17 больных ХГС-ЦП, не было выявлено различий в экспрессии Ki-67 в зависимости от этиологии цирроза [10], а пролиферативная активность увеличивалась с наступлением цирроза как при гепатите В, так и при гепатите С.

Согласно полученным нами данным у больных ГЦК как на фоне цирроза печени, ассоциированного как с вирусом гепатита С, так и с вирусом гепатита В, индекс пролиферативной активности опухолевой ткани резко возрастает, что вполне согласуется с данными литературы [8, 10]. Следует отметить, что в более «детализированном» морфологическом исследовании, выполненном J. Koskinas в 2005 г., показано, что в очагах опухолевой ткани экспрессия Ki-67 выше, чем в окружающей ткани печени, и индекс возрастает с увеличением степени злокачественности опухоли. Более того даже неопухолевая ткань у пациентов с циррозом вирусной этиологии и ГЦК экспрессировала достоверно больше Ki-67 (среднее – 10,18%), чем ткань печени больных циррозом без ГЦК (среднее – 5,5%) [10].

Статистически значимых отличий между пролиферативной активностью гепатоцитов у пациентов с циррозом печени, систематически употребляющих алкоголь (медиана – 3,9%) и пациентов без систематического употребления алкоголя (медиана – 1,5%) мы не выявили. Однако в исследовании регенераторной способности цирротически трансформированной печени, выполненном N. Horiguchi et al. в 2007 г. [7], установлено, что регенерация печени подавлена у пациентов, страдающих алкоголизмом. Аналогичные данные получены и в группах пациентов, не достигших цирротической стадии [6].

В контрольной группе больных, умерших от соматической патологии, выявлен низкий уровень пролиферативной активности (медиана – 1,4%, минимум – 0, максимум 2,8%), сходный с уровнем, наблюдаемым рядом других исследователей [8, 7].

Заключение. Проллиферация гепатоцитов, уровень которой отражает регенераторный потенциал печени, зависит от этиологии хронического вирусного гепатита (В или С) и стадии патологического процесса (хронический гепатит, цирроз печени или ГЦК). Различные показатели пролиферативной активности гепатоцитов у больных хроническим гепатитом и хроническим гепатитом с исходом в цирроз при различной этиологии процесса (вирус гепатита В или С) и одинаковом высоком уровне повреждения (ИГА 13–18 аллов) свидетельствуют о разных механизмах патогенеза хронической инфекции, вызванной вирусами гепатитов В и С, и требуют проведения дальнейших исследований.

Список литературы

1. Диагностическая иммуногистохимия опухолей / под ред. Д.Ф. Глузмана. – К.: Морион, 2003. – 193 с.
2. Непомнящих Д.Л., Айдагулова С.В., Непомнящих Г.И. Биопсия печени: патоморфогенез хронического гепатита и цирроза. – М.: Изд-во РАМН, 2006. – 368 с.
3. Шапиро И.Я., Карев В.Е.. Гепатоцеллюлярная карцинома, ассоциированная с HBV. Особенности эпидемиологии, клиники и морфологии. Клеточно-молекулярные аспекты патогенеза и диагностики / под ред. А.В. Шаброва. – М.: Триада Лтд., 2007. – 167 с.
4. Amin J, Law MG, Bartlett M, Kaldor JM, Dore GJ. Causes of death after diagnosis of hepatitis B or hepatitis C infection: a large community-based linkage study. *Lancet*. – 2006. – 368. – P. 938–945.
5. Cadranel J.-F., Lahmek P., Causse X. et al. Epidemiology of chronic hepatitis B infection in France: risk factors for significant fibrosis – results of a nationwide survey // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. – 2007. – Vol. 26, № 4. – P. 565–576.
6. Farinati F., Cardin R., D'Errico A. et al. Hepatocyte proliferative activity in chronic liver damage as assessed by the monoclonal antibody MIB1 Ki-67 in archival material: the role of etiology, disease activity, iron, and lipid peroxidation // *Hepatology*. – 1996. – Vol. 23. – P. 1468–1475.
7. Horiguchi N., Ishac E.J.N., Gao B. Liver regeneration is suppressed in alcoholic cirrhosis: Correlation with decreased STAT3 activation // *Alcohol*. – 2007. – Vol. 41(4). – P. 271–280.
8. Kaita K.D.E., Pettigrew N., Minuk G.Y. Hepatic regeneration in humans with various liver disease as assessed by Ki-67 staining of formalin-fixed paraffin embedded liver tissue // *Liver*. – 1997. – Vol. 17, №1. – P. 13–16.
9. Knodell R.G., Ishak K.G., Black W.C., et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis // *Hepatology*. – 1981. – Vol. 1, № 5. – P. 431–435.
10. Koskinas J., Petraki K., Kavantzias N. et al. Hepatic expression of the proliferative marker Ki-67 and p53 protein in HBV or HCV cirrhosis in relation to dysplastic liver cell changes and hepatocellular carcinoma // *Viral Hepatitis*. – 2005. – №12(6). – P. 635–641.
11. Marcellin P, Pequignot F, Delarocque-Astagneau E et al. Mortality related to chronic hepatitis B and chronic hepatitis C in France: evidence for the role of HIV coinfection and alcohol consumption // *Hepatology*. – 2008. – №48. – P. 200–207.
12. Mathurin P., Thibault V., Kadidja K. et al. Replication status and histological features of patients with triple (B,C,D) and dual (B,C) hepatic infection // *Viral Hepatitis*. – 2000. – Vol. 7. – P. 15–22.
13. McCartney E.M., Semendric L., Helbig K.J. et al. Alcohol metabolism increases the replication of hepatitis C virus and attenuates the antiviral action of interferon // *J. of Infect Dis.* – 2008. – Vol. 198(12). – P. 1766–1775.
14. Park B.K., Park Y.N., Ahn S.H. et al. Long-term outcome of chronic hepatitis B based on histological grade and stage // *Gastroenterol and Hepatol*. – 2007. – Vol. 22, № 3. – P. 383–388.
15. Poynard T., Ratziu V., Charlotte F. et al. Rates and risk factors of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C // *Hepatology*. – 2001. – Vol. 34(5). – P. 730–739.
16. Prasad L., Spicher V.M., Negro F., Rickenbach M., Zwahlen M. Little evidence that hepatitis C virus leads to a higher risk of mortality in the absence of cirrhosis and excess alcohol intake: the Swiss hepatitis C cohort study // *Viral Hepatitis*. – 2009. – Vol. 16(9). – P. 644–649.
17. Weissberg J.I., Andres L.L., Smith C.I. et al. Survival in chronic hepatitis B: an analysis of 379 patients // *Ann. Intern. Med.* – 1984. – Vol. 101, № 1. – P. 613–616.
18. Zarski J.P., Bohn B., Bastie A. et al. Characteristics of patients with dual infection by hepatitis B and C viruses // *Hepatology*. – 1998. – Vol. 28, № 1. – P. 27–33.

Рецензенты:

Горячева Л.Г., д.м.н., ведущий научный сотрудник, руководитель отдела вирусных гепатитов и заболеваний печени ФГУ НИИ детских инфекций ФМБА России, Санкт-Петербург;

Романцов М.Г., д.м.н., профессор кафедры инфекционных болезней СПбГМА им. И.И. Мечникова, руководитель отдела координации медико-биологических исследований научно-технологической фармацевтической фирмы «ПОЛИСАН», г. Санкт-Петербург.