

Резюме диссертаций: информация из ВАК России

Ч.С. Павлов — **Фиброз печени при хронических вирусных гепатитах В и С.**
Ch.S. Pavlov — **Liver fibrosis at chronic viral hepatitis B and C**
(The theses for PhD degree)

Цель работы — изучение патогенеза *фиброза печени* (ФП) при *хроническом вирусном гепатите* (ХВГ) с определением механизмов регуляции фиброгенеза в ткани печени; совершенствование диагностики фиброза с разработкой метода количественной оценки коллагена в ткани печени; определение диагностических возможностей неинвазивных методов исследований, создание и оценка эффективности генно-инженерных конструкций с антифиброзным действием на экспериментальной модели *цирроза печени* (ЦП).

Выполнено 1450 биопсий печени. Вирусное поражение диагностировано у 995 человек в возрасте от 15 до 78 лет. Диагноз ХВГ ($n=903$) и ЦП ($n=92$) устанавливали на основании результатов комплексного клинико-лабораторного обследования больных и результатов биопсии.

Из всей выборки пациентов выделено 149 больных, получивших *противовирусную терапию* (ПВТ): из 46 больных *хроническим гепатитом В* (ХГ В) терапию ламивудином получили 26, интерфероном — 20; из 103 больных *хроническим гепатитом С* (ХГ С) терапию Пег-ИФН- α -2а — 47, интерфероном короткого действия + рибавирином — 56. Всем больным при отсутствии вирусологического ответа проведены повторные *пункционные биопсии печени* (ПБП) — до и после лечения и проанализированы динамика и влияние показателей морфологической активности гепатита и степени ФП на эффективность ПВТ.

План обследования включал: клинические и рутинные лабораторные исследования; инструментальные исследования; ПБП и морфологическое исследование ткани; при наличии показаний — стерильную пункцию и трепанобиопсию костного мозга; изучение состояния обмена железа; эластометрию; фибро- и актитест; доплерографию сосудов печени.

Полуколичественная оценка морфологических признаков ХВГ проводилась с использованием балльных систем Knodell, METAVIR, Ishak. Количественная оценка фиброза выполнена по собственному методу, который основывается на автоматизированной оценке морфологических срезов ткани печени, окрашенных пикросирусом красным.

Иммуногистохимическое выявление антигенов в парафиновых срезах проведено иммунопе-

роксидазным методом по общепринятой методике. С помощью моно- и поликлональных антител выявляли ММП-2, -7, -9, ИММП-1, -4 (LabVision), PDGF, IGF1, AK, PCNA, Apo, C4, CD34, CD68 (DAKO). В качестве вторичных антител применяли биотинилированные антитела к иммуноглобулинам мыши и кролика (DAKO LSAB+KIT, PEROXIDASE).

В целях неинвазивной диагностики фиброза изучались: показатели обмена железа — железо и общая железосвязывающая способность сыворотки крови; ферритин сыворотки; трансферрин сыворотки крови; эластические свойства ткани печени (эластометрия). Исследования проведены на аппарате «FibroScan 502». Неинвазивная диагностика ФП проводилась с помощью методики фибро- и актитеста (BioPredictive, Франция). Показатели кровотока в сосудах печени (доплерографическое УЗИ) изучались на аппарате «Toshiba Nemio» (SSA-550A). Результаты неинвазивных методов исследования ФП сравнивались с данными морфологического анализа.

ПБП проведена всем 149 больным ХВГ до начала курса ПВТ. Биопсия печени выполнена 21 больному ХГ С с нормальным уровнем сывороточных трансаминаз.

Лечение Пег-ИФН- α -2а + рибавирином получили 47 пациентов: 34 — с 1-м генотипом и 13 — с 3-м генотипом вируса. Вирусная нагрузка определена у всех 47 больных: у 34 (72%) количество вируса составило более 2 млн копий/мл (высокая вирусная нагрузка), у 13 (28%) — менее 2 млн копий/мл (низкая вирусная нагрузка). Возраст больных ХВГ, получавших ламивудин, варьировал от 17 до 63 лет (средний $34,2 \pm 2,4$ года).

По результатам исследования, выраженные признаки некровоспалительной реакции в ткани печени у больных ХГ С сопровождаются более тяжелой степенью фиброза. Зависимость между морфологическими данными (*индексом гистологической активности* — ИГА и степенью фиброза) и характеристиками вируса (генотип HCV и уровень виремии) отсутствует.

Комбинированная терапия (Пег-ИФН- α -2а/рибавирин) при ХГ С приводит к положительной динамике морфологических данных: отмечаются достоверное снижение показателей некроза и вос-

паления, тенденция к уменьшению степени фиброза. Благоприятными прогностическими факторами устойчивого вирусологического ответа на ПВТ являются высокая активность АЛТ сыворотки крови до начала лечения и высокий исходный показатель ИГА. У больных со стадиями ФП F1 и F2 вирусологический ответ наступает чаще, чем у пациентов со стадией F3 ($p=0,001$).

Для больных ХГ С характерны высокие показатели ангиогенеза (CD34 и PDGF), экспрессии ММП-2 и высокая пролиферативная активность клеток Ито (C4, AK и IGF1), что может вызывать прогрессирование фиброза и развитие цирротической трансформации. Комбинированная ПВТ больных ХГ С (Пег-ИФН- α -2a/рибавирин) приводит к достоверному снижению пролиферативной активности клеток Ито, фибробластов, ангиогенеза в строме, значимому повышению уровня экспрессии ММП-7 и -9 в гепатоцитах. При этом отмечается достоверное повышение активации механизмов антиметаллопротеиназной защиты путем усиления выработки ИММП-1 и -4, что может способствовать восстановлению баланса регуляторов синтеза экстрацеллюлярного матрикса и нормализации структуры ткани печени.

У больных ХГ В терапия ламивудином в течение 48 нед приводит к положительной динамике морфологических данных: снижение ИГА составляет $2,4 \pm 0,9$ балла ($p=0,001$), снижение степени фиброза — $1,5 \pm 0,3$ балла ($p=0,001$), при этом происходящая динамика не зависит от степени ФП до лечения. Существенных различий в характере гистологических изменений в печени у HBeAg-позитивных и HBeAg-негативных пациентов не выявлено. У больных с исходно повышенным уровнем АЛТ на фоне лечения отмечается достоверная положительная динамика биохимической активности гепатита ($c 148,0 \pm 25,2$ до $38,8 \pm 7,8$ МЕ/мл).

Для больных ХГ В характерно повышение значений показателей ангиогенеза и экспрессии ММП-2, а также высокая пролиферативная активность клеток Ито. Терапия ламивудином в этой группе больных сопровождается снижением пролиферативной активности клеток Ито и фибробластов ($p<0,005$), падением уровня экспрессии ММП-7 и -9 в гепатоцитах, а также уменьшением ангиогенеза в строме ($p<0,005$) при увеличении экспрессии ММП-7, -9 и ИММП в клетках Купфера, макрофагах и клетках эпителия, что свидетельствует о восстановлении баланса регуляторов синтеза экстрацеллюлярного матрикса, активации механизмов антиметаллопротеиназной защиты и уменьшении дальнейшего прогрессирования фибротической реакции печени.

Морфологическое исследование печени с количественной оценкой фиброза определяет весь объем коллагеновых волокон в исследуемом материале, что позволяет оценить количество фиброз-

ной ткани в рамках одной стадии фиброза по METAVIR и исключает влияние субъективных факторов на результаты заключения.

Диагностическая точность метода эластографии сопоставима с данными морфологического исследования печени для выявления продвинутых стадий ФП у больных хроническими гепатитами В и С и составляет при выраженном фиброзе (F3) — 89%, при ЦП (F4) — 96,4%. К факторам, уменьшающим диагностическую точность исследования, относятся возраст пациента старше 50 лет, ИМТ ≥ 28 кг/м², наличие стеатоза печени.

Диагностическая точность метода фибротеста сопоставима с данными морфологического исследования для выявления стадий ФП F2–F4 у больных хроническими гепатитами В и С и составляет при ФП F2–F3 — 85,2%, а при фиброзе F3–F4 — 95,2%.

При проведении доплерографии наиболее диагностически значимыми показателями выраженности ФП у больных ХВГ являются *пульсационный индекс селезеночной артерии* (ИПСА) и *средняя скорость кровотока воротной вены* (ССКВВ). При этом диагностическая точность для ИПСА при ЦП (F4) составляет 82,7%, при выраженном фиброзе (F3) — 76,1%; диагностическая точность для ССКВВ при ЦП (F4) 77,4%, а при выраженном фиброзе (F3) — 65,3%.

У больных ХВГ со стадиями ФП F2–F3 показатели обмена железа (ферритин, железо и НТЖ сыворотки крови) достоверно превышают таковые в группе контроля и у больных с начальной стадией фиброза (F1), что позволяет использовать указанные показатели в качестве дополнительных критериев стадий ФП (F2–F3) у данной категории пациентов.

При проведении генно-инженерной терапии ФП в эксперименте генетические конструкции на основе оптимизированных генов способны экспрессировать потенциально терапевтические гены урокиназы, фактора роста гепатоцитов, ММП-1 и -8. При этом плазмидный экспрессионный вектор pC4W позволяет в 3–5 раз увеличить уровень экспрессии указанных генов по сравнению с традиционно используемыми конструкциями на основе экспрессионного вектора pсDNA3.

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук выполнена в ГОУ ВПО «Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова Росздрава».

Научные консультанты: академик РАМН, доктор медицинских наук, профессор **В.Т. Ивашкин**, доктор медицинских наук, профессор **Е.А. Коган**.

Дата защиты: 22.09.2009 на заседании диссертационного совета Д 215.009.02 при Государственном институте усовершенствования врачей Министерства обороны Российской Федерации.