

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства»

На правах рукописи

КАРЕВ Вадим Евгеньевич

КЛИНИЧЕСКИЕ И ИММУНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ПАТОГЕНЕЗА ХРОНИЧЕСКОЙ НВУ- И НСУ-ИНФЕКЦИИ

14.01.09 – инфекционные болезни

14.03.02 – патологическая анатомия

Диссертация

на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научные консультанты –

з.д.н. РФ, академик РАН, д.м.н., профессор Ю.В. Лобзин

д.м.н., профессор В.А. Цинзерлинг

Санкт-Петербург
2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	18
1.1 Современные представления о естественном течении и исходах хронической HBV- и HCV-инфекции.....	18
1.2 Роль апоптоза в повреждении гепатоцитов при хронической HBV- и HCV-инфекции	27
1.3 Регенерация печени при хронической HBV- и HCV-инфекции	33
1.4 Иммуноморфологические механизмы фиброгенеза печени при хронической HBV- и HCV-инфекции	36
1.5 Морфологические особенности хронической HBV- и HCV- инфекции.....	41
ГЛАВА 2 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	50
РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	
ГЛАВА 3 КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА, ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ И ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЫ, АССОЦИИРОВАННЫХ С HBV И HCV.....	63
3.1 Клинико-лабораторная характеристика хронических гепатитов, ассоциированных с HBV и HCV.....	63
3.2 Клинико-лабораторная характеристика циррозов печени, ассоциированных с HBV и HCV.....	79
3.3 Клинико-лабораторная характеристика гепатоцеллюлярных карцином, ассоциированных с HBV и HCV.....	87
3.4 Анализ причин смерти при циррозах печени и гепатоцеллюлярных карциномах, ассоциированных с HBV и HCV.....	95
3.5 Сравнительная клинико-лабораторная характеристика хронического гепатита, цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы, ассоциированных с HBV и HCV.....	103
ГЛАВА 4 МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ, ЦИРРОЗЕ И ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЕ, АССОЦИИРОВАННЫХ С HBV И HCV.....	111
4.1 Клинические проявления иммунопатологических механизмов повреждения печени при хронических гепатитах, ассоциированных с HBV и HCV.....	111
4.1.1 Внутريدольковые лимфоциты печени, их субпопуляции и внутрипеченочные макрофаги у больных хроническим гепатитом В и хроническим гепатитом С.....	111

4.1.2	Изменения в системе Fas/FasL и экспрессия bcl-2 внутридольковыми лимфоцитами печени при хроническом гепатите В и хроническом гепатите С.....	121
4.2	Клинические проявления иммунопатологических механизмов повреждения печени при циррозах печени, ассоциированных с HBV и HCV.....	137
4.2.1	Внутридольковые лимфоциты печени, их субпопуляции и макрофаги у больных циррозом печени В и циррозом печени С.....	137
4.2.2	Изменения в системе Fas/FasL и экспрессия bcl-2 внутридольковыми лимфоцитами печени при циррозе печени В и циррозе печени С.....	142
4.3	Клинические проявления иммунопатологических механизмов повреждения печени при гепатоцеллюлярных карциномах, ассоциированных с HBV и HCV.....	147
4.3.1	Лимфоциты, их субпопуляции и макрофаги в паренхиме печени и опухолевой ткани у больных гепатоцеллюлярной карциномой В и гепатоцеллюлярной карциномой С.....	147
4.3.2	Изменения в системе Fas/FasL и экспрессия bcl-2 внутридольковыми лимфоцитами печени при гепатоцеллюлярной карциноме В и гепатоцеллюлярной карциноме С.....	152
ГЛАВА 5	ХАРАКТЕРИСТИКА РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ И ЕЕ КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ, ЦИРРОЗЕ И ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЕ, АССОЦИИРОВАННЫХ С HBV И HCV.....	159
5.1	Клиническое значение пролиферативной активности гепатоцитов и синусоидных клеток печени при хроническом гепатите В и хроническом гепатите С.....	159
5.2	Клиническое значение пролиферативной активности гепатоцитов и синусоидных клеток печени при циррозе печени В и циррозе печени С.....	167
5.3	Клиническое значение пролиферативной активности гепатоцитов, синусоидных клеток и клеток опухоли при гепатоцеллюлярной карциноме В и гепатоцеллюлярной карциноме С.....	171
ГЛАВА 6	КЛИНИЧЕСКАЯ И ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФИБРОГЕНЕЗА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ И ЦИРРОЗЕ, АССОЦИИРОВАННЫХ С HBV И HCV.....	176
6.1	Экспрессия α -SMA в звездчатых клетках печени при хронических гепатитах и циррозах, ассоциированных с HBV	

	и HCV.....	176
6.2	Сравнительная характеристика экспрессии α -SMA, выраженности макрофагальной активности и пролиферации непаренхиматозных клеток внутри печеночных долек при хронических гепатитах и циррозах печени, ассоциированных с HBV и HCV.....	181
ГЛАВА 7	ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	190
7.1	Клинико-лабораторная характеристика хронической HBV- и HCV-инфекции.....	191
7.2	Повреждение и регенерация печени при хронической HBV- и HCV-инфекции.....	200
7.3	Фиброгенез при хронической HBV- и HCV-инфекции.....	218
7.4	Особенности повреждения, регенерации и фиброгенеза на разных этапах естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции.....	223
	ВЫВОДЫ.....	234
	ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	237
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	239
	СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ДИССЕРТАЦИИ.....	241
	ЛИТЕРАТУРА.....	243

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Хронические заболевания печени, ассоциированные с вирусами гепатита В и С, представляют собой одну из актуальных проблем современной медицины [31, 32, 82, 143, 173, 193, 243]. Уровень заболеваемости хроническими гепатитами В и С в последние десятилетия во всем мире и в России имеет неуклонную тенденцию к росту [61, 86, 98, 105, 106, 134, 137, 172]. Точная оценка числа инфицированных гепатотропными вирусами людей в силу разных обстоятельств затруднена [136]. По мнению экспертов ВОЗ, вирусом гепатита В инфицировано не менее 240-500 млн жителей планеты, вирусом гепатита С – по ориентировочным оценкам от 150 до 500 млн человек с ежегодным приростом до 3-4 млн человек [15, 37, 38, 60, 189, 343]. Число инфицированных вирусом гепатита С в России приближается к 2 млн человек, вирусом гепатита В к 3 млн человек [166, 168, 174].

К настоящему времени большинство исследователей рассматривают динамику патологических состояний, вызываемых вирусами гепатита В и С как процесс, протекающий от острого гепатита через развитие хронического гепатита и цирроза печени к трансформации в гепатоцеллюлярную карциному [57, 243]. Для всех этапов хронической HBV- и HCV-инфекции (хронический гепатит, цирроз печени и гепатоцеллюлярная карцинома), объединяющими являются гепатотропные вирусы (вирусы гепатита В и С) и хроническое воспаление печени, в основе которого лежат повреждение, пролиферация и прогрессирующий фиброгенез, а также нарушения регуляции клеточного роста [76, 104, 188]. Вместе с тем, схожие клинико-биохимические проявления единого патологического процесса на каждом этапе характеризуются преобладанием одного или нескольких компонентов. Для хронического гепатита свойственно преобладание процессов повреждения и регенераторной пролиферации, цирроз печени при сохраняющемся повреждении и несостоятельной регенерации отличается

преобладанием процессов фиброгенеза. Гепатоцеллюлярная карцинома, возникающая при состоявшейся цирротической трансформации печени, является проявлением нарушения регуляции клеточного роста. Формирование хронического вирусного гепатита само по себе является неблагоприятным исходом острого гепатита, обусловленным патологической реакцией иммунной системы, не способной элиминировать патоген, вызвавший острый вирусный гепатит [188]. Накопленные данные о патогенезе хронических заболеваний печени, обусловленных гепатотропными вирусами гепатита В и С, не могут объяснить несоответствие клинической картины заболевания и морфологических изменений в печени при различных вариантах течения и различных нозологических формах, а также разную частоту неблагоприятных исходов хронической HBV- и HCV-инфекции. Хронизация HBV-инфекции наблюдается у 5%-15% заболевших острым вирусным гепатитом; цирроз печени развивается у 10% из них, а гепатоцеллюлярная карцинома формируется у 8% больных циррозом печени [240]. Исследователи оценивают частоту хронизации острой HCV-инфекции от 60% до 90% [238, 330, 331], от 30% до 60% этих пациентов в последующем страдают циррозом печени [336], а гепатоцеллюлярная карцинома развивается у 15% больных циррозом печени, связанным с HCV [242, 361]. В прогнозировании летальности характер течения цирротической стадии хронического вирусного гепатита имеет определяющее значение. Учитывая широкую распространенность хронической HBV- и HCV-инфекции среди лиц молодого возраста, высокую частоту неблагоприятных исходов [57, 134] с инвалидизацией и значительной летальностью на завершающих этапах естественного течения, они представляют собой одну из наиболее актуальных проблем современной медицины [32, 104, 110, 121, 157, 175, 176, 193, 243, 395].

Современные достижения в области иммуноморфологии [113], позволяющие визуализировать и количественно оценивать факторы, участвующие в реализации процессов повреждения, регенерации и фиброгенеза печеночной ткани, открывают новые возможности дальнейшего изучения патогенетических механизмов хронической HBV- и HCV-инфекции, совершенствования и создания оригинальных методов диагностики, а также патогенетического обоснования для разработки новых методов лечения.

Степень разработанности темы исследования. Несмотря на широкий интерес исследователей и всестороннее изучение в последние десятилетия различных аспектов патогенеза хронической HBV- и HCV-инфекции, нерешенными остаются многие вопросы, связанные как с патогенными свойствами гепатотропных вирусов, так и с характером и закономерностями развития иммунопатологических процессов, приводящих к прогрессии повреждения печени и фиброза с исходом в формирование гепатоцеллюлярной карциномы в ходе естественного течения этих инфекционных заболеваний.

Данные разных исследователей, касающиеся эпидемиологических и клинических аспектов, а также частоте развития неблагоприятных исходов хронической HBV- и HCV-инфекции [49, 61, 192, 240, 325, 328, 336, 340] и разной продолжительности жизни у этих больных, значительно различаются, что отчасти обусловлено региональными, в том числе социальными и экономическими особенностями распространения инфекционного процесса. Многочисленными клиническими, клинико-морфологическими и экспериментальными исследованиями показана роль фазы биологического цикла гепатотропных вирусов, а также клеточного звена иммунитета в прогрессировании повреждения печени [28, 132, 133, 153, 166, 179, 324, 392]. Вместе с тем, не получено убедительных данных, объясняющих, более часто встречающееся при хронической HCV-инфекции, несоответствие клинико-лабораторных показателей активности патологического процесса

(по уровню выраженности цитолитического синдрома) морфологическим изменениям в печени. Остаются не выясненными причины более выраженного цитолитического синдрома у больных ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV, по сравнению с больными HCV-инфекцией, при сопоставимой гистологической активности.

Изучению апоптоза, его роли в патогенезе вирусных гепатитов [8, 24, 69, 141, 203, 253, 291, 347], посвящены многочисленные исследования. Изучались прямые маркеры апоптоза гепатоцитов [338], экспрессия про- и противоапоптозных факторов на поверхности паренхиматозных клеток [51, 129, 296, 327], а также на поверхности лимфоцитов периферической крови [9, 20, 55, 59, 118, 212, 244], про- и противоапоптозные свойства гепатотропных вирусов [279, 281, 287, 313, 354, 398]. Однако недостаточно освещены вопросы апоптоза внутридольковых лимфоцитов [357], роль которых в клеточно-опосредованном иммунном повреждении гепатоцитов признается большинством исследователей.

Регенераторная способность печени, равно как и пролиферативный потенциал новообразований, является предметом многочисленных разносторонних клинико-морфологических и экспериментальных исследований [76, 202, 259, 283, 284, 298, 303, 308, 355, 356], вместе с тем, в современных литературных источниках нет сравнительных данных о клиническом значении выраженности пролиферативной активности паренхиматозных и непаренхиматозных клеток печени на всех этапах естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции.

Высокий интерес у исследователей вызывают механизмы фиброгенеза в печени [152, 163, 218, 370, 379]. Эти исследования направлены на выявление причин различной скорости развития и прогрессирования фиброза печени как в рамках одной этиологической группы (обусловленной HBV или HCV), так и в сравнении между разными этиологическими группами на разных этапах естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции [19, 33,

90, 94, 111, 151, 207, 213, 298, 310, 317, 319, 345, 359, 389, 400], однако, однозначных данных, всесторонне характеризующих эти процессы, не получено.

Таким образом, несмотря на многочисленные разносторонние исследования патогенеза хронической HBV- и HCV-инфекции, нерешенными остаются многие вопросы, связанные как с характером и закономерностями развития иммунопатологических процессов, приводящих к прогрессии повреждения печени, сопровождающегося регенераторной пролиферацией гепатоцитов, так и патологической пролиферации, а также фиброза в ходе естественного течения, а также клинического значения и морфологической диагностики этих процессов.

Вышеизложенное явилось основанием для определения цели настоящего исследования и формулирования задач для ее достижения.

Цель исследования:

Изучение патогенеза хронической HBV- и HCV-инфекции путем выявления взаимосвязей клинико-лабораторных и морфологических показателей, характеризующих процессы повреждения, регенерации и фиброгенеза в печени у больных хроническим гепатитом, циррозом печени и гепатоцеллюлярной карциномой, ассоциированных с вирусами гепатита В и С.

Задачи исследования:

1. Выявить различия клинических и лабораторных показателей при хроническом гепатите, циррозе печени и гепатоцеллюлярной карциноме, ассоциированных с вирусами гепатита В и С.

2. Дать сравнительную характеристику клеточно-опосредованного иммунного повреждения гепатоцитов и выявить особенности содержания CD4+, CD8+ Т-лимфоцитов, CD68+ макрофагов в составе внутريدольковой

клеточной инфильтрации печени при хроническом гепатите, циррозе печени и гепатоцеллюлярной карциноме, ассоциированных с вирусами гепатита В и С в сопоставлении с клинико-лабораторными и морфологическими показателями повреждения печени.

3. Показать зависимость клинико-лабораторных и морфологических показателей, характеризующих повреждение гепатоцитов, от выраженности апоптоза внутрипеченочных лимфоцитов в зависимости от характера экспрессии на их поверхности проапоптотных (Fas и FasL) и антиапоптотного (bcl-2) факторов при хроническом гепатите, циррозе печени и гепатоцеллюлярной карциноме, ассоциированных с вирусами гепатита В и С, а также охарактеризовать клиническую значимость апоптоза внутрипеченочных лимфоцитов.

4. Определить характер и клиническое значение выраженности регенераторной и патологической пролиферации гепатоцитов и опухолевых клеток при хроническом гепатите, циррозе печени и гепатоцеллюлярной карциноме, ассоциированных с вирусами гепатита В и С в зависимости от характера экспрессии Ki67 клетками печени.

5. Выявить особенности патологического фиброгенеза в печени и их клиническую значимость у больных хроническим гепатитом, циррозом печени и гепатоцеллюлярной карциномой, ассоциированных с вирусами гепатита В и С в зависимости от характера экспрессии гладкомышечного актина (α -SMA) звездчатыми клетками печени.

6. Установить патогенетические взаимосвязи клинико-лабораторных и морфологических показателей, характеризующих процессы повреждения, регенерации и фиброгенеза в печени при хроническом гепатите, циррозе печени и гепатоцеллюлярной карциноме, ассоциированных с вирусами гепатита В и С.

Гипотеза исследования. В основе различных или схожих на разных этапах хронической HBV- и HCV-инфекции клинических проявлений, разной

частоты и скорости развития неблагоприятных исходов, лежит принципиально разный характер местного клеточного иммунного ответа, обусловленный этиологией и определяющий особенности повреждения, регенераторной или патологической пролиферации, а также патологического фиброгенеза в печени. Выявленные особенности патогенеза хронической HBV- и HCV-инфекции могут служить основой для совершенствования и создания оригинальных методов диагностики, а также патогенетического обоснования для разработки новых методов лечения.

Научная новизна исследования. Выявлены и сопоставлены особенности местного клеточного иммунного ответа на основании количественного определения CD4+, CD8+ - Т-лимфоцитов, CD68+ макрофагов в составе клеточной воспалительной инфильтрации паренхимы печени, а также стромы опухолевой ткани на всех этапах хронической HBV- и HCV-инфекции. Показана клиническая значимость характера местного клеточного иммунного ответа в формировании неблагоприятных исходов хронической HBV- и HCV-инфекции.

Охарактеризовано клеточно-опосредованное иммунное повреждение печени, реализующееся Fas/FasL – обусловленным механизмом апоптоза, с детализацией особенностей экспрессии проапоптозных (Fas, FasL) и антиапоптозного (bcl-2) факторов на поверхности внутрипеченочных лимфоцитов, определяющих их функциональное состояние на всех этапах хронической HBV- и HCV-инфекции, а также впервые показана клиническая значимость различного функционального состояния внутридольковых лимфоцитов, объясняющего частое несоответствие клинико-лабораторных и морфологических показателей повреждения паренхимы печени как у больных хронической HBV- инфекцией, так и у больных хронической HCV-инфекцией на всех этапах естественного течения.

Определен характер регенераторной и патологической пролиферации (по экспрессии Ki67) гепатоцитов, синусоидных клеток печени, а также

клеток опухоли и впервые показана ее клиническая значимость на всех этапах хронической HBV- и HCV-инфекции.

Показаны различные варианты патологического фиброгенеза в печени и их клиническая значимость с учетом характера экспрессии гладкомышечного актина альфа (α -SMA), как маркера активации звездчатых клеток, в зависимости от этиологии, степени выраженности повреждения и макрофагальной реакции паренхимы печени на всех этапах хронической HBV- и HCV-инфекции. Впервые патогенетически обоснован критерий выделения группы риска прогрессирования патологического фиброза в печени у больных хроническим гепатитом С с умеренной и высокой гистологической активностью.

Впервые произведена комплексная оценка характера и выраженности повреждения, регенерации и фиброгенеза в печени, характеризующих естественное течение хронической HBV- и HCV-инфекции, а также показана облигатная патогенетическая связь этих процессов между собой и их клиническая значимость в формировании неблагоприятных исходов и продолжительности жизни больных.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования.

Результаты исследования обобщают и существенно дополняют современные представления о механизмах повреждения, регенерации и патологического фиброгенеза как важнейших звеньях патогенеза естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции.

Детально изучены и представлены клинико-лабораторные и иммуноморфологические особенности ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV, выделены особенности местного клеточного иммунного ответа на разных этапах естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции, позволяющие на основании полученных данных проводить его дальнейшее изучение с целью совершенствования и разработки новых методов патогенетической терапии.

Выявленные закономерности экспрессии проапоптозных (Fas, FasL) и антиапоптозного (bcl-2) факторов на поверхности внутрипеченочных лимфоцитов, определяющих их потенциальную готовность к апоптозу при ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV, позволяют прогнозировать выраженность повреждения паренхимы печени и объясняют частое несоответствие клинических проявлений заболевания морфологическим изменениям в печени.

Полученные данные о различной выраженности регенераторной пролиферации гепатоцитов в условиях сохраняющегося клеточно-опосредованного иммунного повреждения паренхимы печени на разных этапах хронической HBV- и HCV-инфекции являются патогенетически обоснованным прогностическим критерием развивающейся декомпенсации печеночной недостаточности и может использоваться для определения тактики лечения больных ЦП.

Выявленные закономерные взаимосвязи выраженности активации звездчатых клеток печени, характеризующейся экспрессией ими гладкомышечного актина альфа (α -SMA), с этиологией патологического процесса, выраженностью повреждения гепатоцитов и макрофагальной реакцией печени, позволяют прогнозировать неблагоприятное течение патологического фиброгенеза в печени, а также выделять группы больных ХГ с наибольшим риском развития цирроза печени.

Установленные патогенетические взаимосвязи процессов повреждения, регенераторной пролиферации и патологического фиброгенеза в печени, наблюдающиеся на всех этапах хронической HBV- и HCV-инфекции, являются основанием для дифференцированного подхода к терапии, направленной на снижение выраженности повреждения паренхимы печени, а значит, и к снижению скорости фиброгенеза в печени, особенно у больных хронической HCV-инфекцией.

Методология и методы исследования. В диссертационной работе использована общенаучная методология, основанная на системном подходе с применением формально-логических, общенаучных и специфических методов. Исследование проводилось с целью изучения комплексного взаимодействия компонентов исследования (эпидемического процесса, клинико-лабораторных изменений, этиопатогенеза, морфогенеза и иммуноморфогенеза, а также танатогенеза).

Работа выполнена в дизайне сравнительного открытого исследования с использованием фундаментальных, эпидемиологических, клинических, лабораторных, в том числе серологических и молекулярно-биологических, инструментальных, патоморфологических, в том числе – иммуноморфологических и иммуногистоморфометрических, статистических методов. При выполнении прижизненных и аутопсийных морфологических исследований применялись методы описательной и аналитической патоморфологии.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Различные клинические и морфологические проявления, скорость развития и частота неблагоприятных исходов хронической HBV- и HCV-инфекции на всех этапах естественного течения основаны на разном характере местного клеточного иммунного ответа, обусловленном персистенцией HBV и HCV.

2. Клинические и лабораторные проявления хронической HBV- и HCV-инфекции, разные на этапе хронического гепатита, как и во многом схожие на этапах цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы, зависят от этиологии и стадии патологического процесса и обусловлены: а) функциональным состоянием внутридольковых лимфоцитов, определяющих выраженность клеточно-опосредованного иммунного повреждения гепатоцитов, б) выраженностью регенераторной пролиферации гепатоцитов,

в) особенностями патологического фиброгенеза в печени, определяемыми характером местного клеточного иммунного ответа.

3. Процессы повреждения, регенераторной пролиферации гепатоцитов и патологического фиброгенеза при хронической HBV- и HCV-инфекции неразрывно связаны между собой, имеют различные, определяемые этиологией, патогенетические механизмы, и, при естественном течении, лежат в основе прогрессирования заболевания, приводя к формированию неблагоприятных исходов в виде трансформации хронического гепатита в цирроз печени и гепатоцеллюлярную карциному.

Достоверность и обоснованность результатов исследования. В работе использованы современные методики сбора и обработки исходной информации. Проведенные исследования являются репрезентативными, о чем свидетельствуют представительные выборочные совокупности с обоснованием подбора объектов наблюдения. Достоверность и обоснованность результатов исследования обеспечена системностью исследовательских процедур и использованием современных способов статистической обработки информации с применением пакета прикладных программ Statistica for Windows (версия 5,0), проверкой статистических гипотез.

Апробация результатов исследования. Результаты исследований и основные положения работы были доложены и обсуждены на Девятой Российской конференции «Гепатология сегодня» (Москва, 2004); V Съезде Научного общества гастроэнтерологов России (Москва, 2005); Десятой Российской конференции «Гепатология сегодня» (Москва, 2005); I Всероссийской конференции патологоанатомов (Орел, 2005); VIII Съезде Научного общества гастроэнтерологов России (Москва, 2008); Российской научно-практической конференции «Инфекционные болезни: современные проблемы диагностики и лечения» (Санкт-Петербург, 2008); Пятнадцатой Российской конференции «Гепатология сегодня» (Москва, 2010, вторая

премия за лучшее устное выступление); 12-ом Славяно-Балтийском научном форуме «Санкт-Петербург – Гастро – 2010» (Санкт-Петербург, 2010), заседаниях Санкт-Петербургского научного общества патологоанатомов (2009, 2011); международном конгрессе APASL Liver Week (Сингапур, 2013); на Всероссийском ежегодном конгрессе «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика» (Санкт-Петербург, 2013); XXXV итоговой научно-практической конференции «Актуальные вопросы инфекционных заболеваний у детей – 2013» (Санкт-Петербург, 2013); 21 конференции Европейского союза гастроэнтерологов (UEG2013, Берлин, 2013); Международном конгрессе APASL (Брисбан, Австралия, 2014); Двдцатой Российской конференции “Гепатология сегодня” (Москва, 2015).

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты исследования внедрены в работу клиники ФГБУ НИИДИ ФМБА России, СПб КИБ им. С.П. Боткина, СПб городского патологоанатомического бюро и используются для преподавания на кафедре инфекционных болезней СЗГМУ им. И.И. Мечникова, на кафедре патологии медицинского факультета СПбГУ, кафедре патологической анатомии и кафедре инфекционных болезней взрослых СПбГПМА, кафедре инфекционных болезней ВМедА им. С.М. Кирова. кафедре патологической анатомии СПбГМУ им. И.П. Павлова, разработано пособие для врачей «Вирусные гепатиты (к стандарту патологоанатомического исследования)» в соавторстве (Карев В.Е., Цинзерлинг В.А. Библиотека патологоанатома. Науч.-практич. журнал – СПб.: ГУЗ «ГПАБ», 2011. – Вып. 123. – 76 с.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 53 научные работы, в том числе одна монография, 1 патент на изобретение и 17 статей в журналах, входящих в Перечень ведущих рецензируемых научных изданий ВАК Минобрнауки РФ для опубликования основных результатов диссертаций на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук.

Личный вклад автора в проведенном исследовании. Автором самостоятельно проведены анализ отечественных и зарубежных литературных источников по изучаемой проблеме, планирование исследования, анализ медицинской документации, морфологические исследования, получение и обработка морфометрических иммуноморфологических данных.

Автором самостоятельно выполнены анализ и обобщение полученных данных, написание текста диссертационного исследования, сформулированы выводы и практические рекомендации. Интерпретация данных исследований, посвященных особенностям клинического течения, морфологической и иммуноморфологической характеристики естественного течения хронической HBV-инфекции проводилась совместно с д.м.н. Шапиро И.Я. [Шапиро И.Я., 2005, 2007].

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 284 страницах текста компьютерного набора, состоит из введения, 5 глав собственных исследований, обсуждения, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы, включающего 400 источников, в том числе 195 отечественных и 205 зарубежных авторов. Текст иллюстрирован 94 таблицами, 25 рисунками и 3 клиническими примерами.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современные представления о естественном течении и исходах хронической HBV- и HCV-инфекции

Благодаря достижениям в области вирусологии и молекулярной биологии, позволяющим достоверно верифицировать гепатотропные вирусы, к настоящему времени окончательно сформировалась концепция, согласно которой различные патологические состояния, вызываемые гепатотропными HBV и HCV рассматриваются как единый процесс – от развития острого гепатита через формирование хронического гепатита и цирроза печени к трансформации в гепатоцеллюлярную карциному [79, 91, 171, 243]. Формирование хронических форм HBV- и HCV-инфекции само по себе является неблагоприятным исходом острого гепатита, обусловленным патологической реакцией иммунной системы, не способной элиминировать патоген, вызвавший острый вирусный гепатит. Острый вирусный гепатит В в фульминантной форме, наблюдающийся в 0,1% - 0,5% HBV- инфекции может приводить к смерти [341]. К счастью, в большинстве наблюдений ОГВ заканчивается полным выздоровлением, и лишь у небольшого числа больных, по разным оценкам от 5% [341] до 15% [44] развивается хроническая HBV-инфекция в виде ХГВ. Менее благоприятные исходы наблюдаются при острой HCV- инфекции, когда по данным разных исследователей хронизация ОГС наблюдается от 5%-20% [238] до 60%-90% больных [330, 331] при крайней редкости развития фульминантных форм ОГС с летальным исходом.

Хронические вирусные гепатиты В (ХГВ) и С (ХГС) представляют собой нозологические формы, определяющиеся диффузным воспалительным процессом в печени, сохраняющимся на протяжении 6 и более месяцев. Классификация хронических гепатитов и циррозов печени была разработана

и предложена Международной рабочей группой, включающей более 90 ведущих специалистов мира, при поддержке консультативных советов и плановых комитетов Всемирного конгресса гастроэнтерологов (WCOG) в Лос-Анджелесе [387]. Ныне действующая классификация хронических гепатитов одобрена Правлением Ассоциации гастроэнтерологов России [56, 83].

Естественное течение ХГВ определяется фазой биологического цикла вируса (репликативной и нерепликативной), от которой зависят выраженность печеночных и внепеченочных симптомов и синдромов, степень гистологической активности, определяющих клиническую картину. Стадия заболевания, определяемая степенью выраженности фиброза не зависит от текущей фазы биологического цикла вируса, а является результатом предшествующих событий в ткани печени. Под фазой репликации принято рассматривать активность продукции вируса в гепатоцитах, приводящих к появлению в сыворотке крови классического набора серологических маркеров активности HBV-инфекции (HBsAg, HBeAg, HBcorAg) и возрастанию концентрации HBV-ДНК в сыворотке крови, определяемой методом ПЦР более 10^5 копий/мл. Естественное течение HBV-инфекции, по мнению большинства исследователей [153, 179, 324, 392] включает последовательные фазы, связанные с закономерным развитием инфекционного процесса и изменениями во взаимоотношении патогена и иммунной системы хозяина с появлением в сыворотке крови HBeAg или HBeAb, а также HBV-ДНК [153, 179, 324, 392]: 1. Фаза иммунологической толерантности, которая характеризуется наличием в сыворотке крови HBsAg, HBcAg, высокой концентрацией ДНК вируса с нормальными биохимическими показателями и минимальной гистологической активностью. Сочетание этих факторов свидетельствует об отсутствии иммунного ответа против инфицированных гепатоцитов, чаще в инкубационном периоде ОГВ. 2. Иммуноактивная фаза характеризуется

появлением клинических (в виде нарастания выраженности цитолитического синдрома) и морфологических (в виде нарастания гистологической активности гепатита) признаков повреждения гепатоцитов при иммуноопосредованном повреждении паренхимы печени при снижении концентрации HBV-ДНК. При ХГВ иммуноактивная фаза может длиться продолжительное время, часто исчисляемое годами. 3. Низкорепликативная или нерепликативная фаза ХГВ характеризуется сероконверсией HBeAg в HBeAb, значительным снижением и отсутствием репликации HBV, а также биохимической и морфологической ремиссией у большинства пациентов. 4. Фаза реактивации HBV и HBe-негативного хронического гепатита развивается у $\frac{1}{4}$ пациентов с сероконверсией анти-HBe. Способность вируса к репликации после произошедшей сероконверсии HBeAg исследователи связывают с мутациями в pre-core и core promoter участках вируса, препятствующих продукции HBeAg. В настоящее время наибольшее распространение получили HBeAg-негативные мутантные штаммы HBV. В последние годы происходит возрастание уровня циркуляции мутантных штаммов HBV, по данным некоторых авторов соотношение «диких» и мутантных штаммов вируса в настоящее время составляет более чем 1:30 [156, 262, 277, 369], тогда как несколько десятилетий назад это соотношение составляло 1:10 – 1:15 [154]. Диагностика HBeAg-негативного гепатита основывается на выявлении в сыворотке крови HBsAg, отсутствии HBeAg, наличии HBeAb, содержании в сыворотке крови более 10^5 копий HBV-ДНК, а также при наличии биохимических (содержание в сыворотке крови АлАТ $>1,5 N$) и гистологических признаков повреждения гепатоцитов [44]. Клиническое течение HBeAg-негативного ХГВ характеризуется постоянным чередованием периодов обострений с возрастанием биохимической и гистологической активности и ремиссий с их снижением. Вирусные гепатиты В, вызываемые мутантными штаммами наиболее часто протекают более тяжело и вызывают большее количество осложнений [196]. Состояние

гуморального иммунитета больных ХГВ, а также выраженность репликации вируса имеют важное клиническое значение, поскольку от этих параметров зависит вариант естественного течения ХГ, и соответственно, прогноз заболевания. Наиболее неблагоприятным вариантом развития событий является течение ХГ с частым развитием периодов клинической и морфологической активности гепатита, для таких пациентов характерно постоянное наличие HBsAg в сыворотке крови и стойкая репликация HBV, а также периодическое подавление вирусной репликации у HBsAg-позитивных пациентов. Высокий уровень повреждения паренхимы печени обуславливает риск развития ЦП и ГЦК [44, 352, 391, 396]. Более благоприятным считается течение ХГВ с минимальной гистологической активностью и отсутствием клинических признаков повреждения паренхимы печени у больных с наличием в сыворотке крови HBsAb и низкой концентрацией HBV-ДНК [44].

Изучение естественного течения HCV-инфекции в значительной степени затруднено, что связано с характерным для HCV-инфекции субклиническим, часто безжелтушным течением острого периода заболевания и скрытым малосимптомным течением ХГ [62, 96, 185]. Характер развивающегося после инфицирования HCV процесса в печени зависит от множества факторов, в частности от механизма инфицирования, дозы инфицировавшего патогена, преморбидного фона и наличия кофакторов повреждения печени [63, 112, 178, 349]. Данные исследователей о значении генотипа вируса в выраженности патологического процесса и скорости наступления неблагоприятных исходов неоднозначны, одни исследователи связывают тяжесть течения ХГС с вариантом генотипа [21, 36, 195, 286] другие не находят такой связи [199, 249, 297]. Вместе с тем, различные генотипы HCV наиболее часто выявляются при различных путях инфицирования. Генотип 1b наиболее часто выявляется у больных при инфицировании при гемотрансфузиях, тогда как генотипы 1a, 2a и 3 – при немедицинских парентеральных вмешательствах у наркопотребителей, в зависимости от

региона, частота циркуляции различных генотипов различна [28, 132, 133, 166]. На основании выявления клинических признаков активности патологического процесса в печени принято выделять два варианта течения ХГС: без клинических признаков повреждения гепатоцитов при отсутствии гиперферментемии и с наличием лабораторных признаков повреждения печени [199, 288, 329].

Степень активности и стадия патологического процесса при ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV определяются выраженностью клинических проявлений заболевания, а также морфологическими изменениями, среди которых наиболее информативными являются признаки повреждения гепатоцитов, клеточная инфильтрация и степень выраженности фиброза. Наряду с другими полуколичественными методиками определения гистологической активности и стадии ХГ, широкое распространение в практической медицине имеет индекс гистологической активности (ИГА), предложенный R.G. Knodell и соавт. [254]. Клиническим эквивалентом гистологической активности гепатита является лабораторное определение активности АлАТ и АсАТ в сыворотке крови. Увеличение этих показателей в сыворотке крови у больных свидетельствует о наличии повреждения гепатоцитов, незначительное повышение этого показателя соответствует минимальной степени активности патологического процесса, при повышении активности АлАТ в сыворотке крови не более чем в 2 раза свидетельствует о слабой активности, при превышении нормальных показателей в 2-5 раз об умеренной активности, а более чем в 5 раз – о выраженной активности ХГ. ХГВ и ХГС характеризуется клинически преимущественно малосимптомным течением. Наиболее часто диагностика ХГВ и ХГС основывается на выявлении гиперферментемии и маркеров HBV и HCV, а биопсия печени является «золотым стандартом» в диагностике ХГ [11, 16, 84, 119]. Субклиническое течение характерно не только у больных малоактивными формами ХГВ и ХГС, по данным В.В. Серова и З.Г. Апросиной [147] анализ

144 больных с ОВГ желтушной формы в анамнезе показал, что первичный диагноз «цирроз печени» был поставлен в 48,6% случаев, а при первой госпитализации в клинику им. Е.М. Тареева – в 74,4% случаев (благодаря большим возможностям в клинике поставить диагноз).

Клинические проявления ХГВ и ХГС выражены слабо и в большей степени типичны. Для больных характерны астенический синдром, гепатомегалия и спленомегалия, а в части наблюдений наличие телеангиэктазий, пальмарной эритемы и др. Желтуха не является характерным симптомом у больных ХГВ [167] и ХГС, что затрудняет раннее установление диагноза [62]. В клиническом анализе крови больных ХГВ и С может быть ускоренное СОЭ, а также анемия, лейкопения и тромбоцитопения [80, 190]. При биохимическом исследовании крови наиболее часто имеет место повышение активности трансаминаз, реже – увеличение билирубина и наличие холестатического синдрома (щелочной фосфатазы и γ -глутаминтранспептидазы). Диспротеинемия обычно не выражена [147, 167, 188]. По мнению большинства специалистов, выраженность изменения активности аминотрансфераз и билирубина находится в прямой зависимости от активности патологического процесса печени. Изучение внепеченочных проявлений хронической HBV- и HCV-инфекции, по мнению некоторых исследователей [29, 65, 103, 263] представляет собой сложную задачу, учитывая полиморфизм и непостоянность патологических изменений, а также ограниченность групп исследований.

Естественное течение хронической HBV- и HCV-инфекции, согласно разделяемой большинством специалистов концепции единой цепи патологических состояний от развития острого гепатита через формирование хронического гепатита и цирроза печени к трансформации в гепатоцеллюлярную карциному [91, 243], приводит к цирротической трансформации печени у больных ХГВ и ХГС. Особенности гепатотропных

вирусов, а также особенности патогенеза хронической HBV- и HCV-инфекции лежат в основе разной продолжительности и разной частоты формирования ЦП в исходе ХГ. Данные разных исследователей свидетельствуют о вероятности развития цирроза печени у 10%-30% больных ХГВ [192, 240, 325, 340] и у 20% - 60% больных ХГС [328, 336]. Активность патологического процесса в печени влияет на скорость прогрессирования фиброза печени, умеренная гистологическая активность ХГВ приводит к трансформации в цирроз у 30% больных в течение 13 лет, ХГВ с высокой гистологической активностью трансформируется в цирроз в среднем через 3,5 года [49]. Наступление цирротической стадии ХГС у наблюдаемых больных отмечено в 35,9% через 25 лет после инфицирования [61], другие исследователи рассматривают длительность развития несовместимого с жизнью ЦП или ГЦК от нескольких лет до 20-30 лет у 18-20% инфицированных HCV [328].

Вне зависимости от этиологии, ЦП, характеризующийся патологическим разрастанием соединительной ткани с образованием фиброзных септ и формированием ложных печеночных долек, кардинальным изменением ангиоархитектоники печени с появлением внутripеченочных анастомозов, является необратимой стадией ХГ. Изменения структуры печеночной ткани лежат в основе развития печеночной недостаточности и портальной гипертензии [60]. По степени выраженности клинических проявлений выделяют три стадии ЦП: компенсированную, декомпенсированную и терминальную.

Клинические проявления компенсированной стадии ЦП и ХГ схожи, в связи с чем ЦП в стадии компенсации чаще протекает латентно [157] и обнаруживается при профилактическом осмотре или морфологическом исследовании биоптата печени по поводу другого заболевания [117]. При декомпенсированном ЦП у больных нарастает выраженность астенического и диспепсического синдромов, появляются субфебрилитет, геморрагический

синдром, выражающийся в носовых, маточных кровотечениях и кровоточивости десен, артралгии, отмечается снижение либидо и нарушение менструального цикла. При осмотре у таких больных обнаруживают сосудистые «звездочки», пальмарную эритему, нередко асцит, гинекомастию, отечно-асцитический синдром. Исследование лабораторных показателей свидетельствует о развитии цитопенического синдрома, нормохромной и гипохромной анемии, лейкопении, и тромбоцитопении. Характерным симптомом является увеличение показателя СОЭ. Характерно снижение белкосинтетической функции печени. Изменение биохимических показателей чаще свидетельствует о незначительном увеличении содержания АлАт и АсАт в сыворотке крови. Терминальная стадия ЦП характеризуется нарастанием печеночно-клеточной недостаточности, портальной гипертензией с формированием рефрактерного к медикаментозной терапии асцита, портальной интестинопатии [39], развитием гепаторенального и гепатопульмонального синдромов, присоединением бактериальной или микотической инфекции, частыми профузными кровотечениями из варикозно-расширенных вен пищевода и желудка [43]. Клинико-лабораторные особенности ЦП в зависимости от этиологии отсутствуют.

ГЦК, являясь самостоятельной нозологической формой, имеет качественно другой морфологический субстрат, в основе которого лежит нарушение контроля клеточного роста. Е.М. Тареевым [194, 330] на основании клинико-эпидемиологических наблюдений было высказано предположение о связи развития ГЦК с хроническими вирусными заболеваниями печени и персистенцией вируса, впервые наличие HBsAg у больных ГЦК отметила S. Sherlock [226]. Большинство исследователей, принимая во внимание онкогенный потенциал HBV и HCV, рассматривают эту форму как завершающий этап хронической HBV- и HCV-инфекции [215, 350, 371].

ГЦК развивается в исходе хронической HBV-инфекции у 8% больных циррозом печени [240], в исходе хронической HCV-инфекции 15% больных циррозом печени [242, 361]. ГЦК, развивающаяся в исходе хронической HBV- и HCV-инфекции характеризуется бессимптомным течением, о чем свидетельствуют крайне низкая продолжительность жизни после первичной диагностики, составляющая в странах Европы в среднем 15 недель, в странах Азии – 7 недель [309, 315, 375]. Клинические проявления заболевания неспецифичны и часто слабо выражены, среди них прогрессирующее ухудшение самочувствия, нарастание слабости, появление лихорадки и болевого синдрома. При объективном исследовании у больных выявляется пальмарная эритема, телеангиэктазии, а также увеличение и уплотнение печени, имеющую при пальпации бугристую поверхность. При лабораторном исследовании может быть выявлен лейкоцитоз, ускоренное СОЭ, некоторое увеличение содержания АлАт, общего билирубина, щелочной фосфатазы и α -фетопротеина в сыворотке крови. Определение α -фетопротеина в крови не является строго специфичным показателем, так как возможны как ложноположительные, так и ложноотрицательные результаты [147].

Таким образом, для хронических заболеваний печени, ассоциированных с HBV и HCV, на всех этапах патологического процесса характерна общность клинико-лабораторных симптомов и синдромов. Исключением является декомпенсированная стадия ЦП (наличие отечно-асцитического синдрома и варикозно расширенных вен пищевода). Указанные наблюдения создают определенные трудности в раннем выявлении цирротической стадии ХГ и ГЦК.

1.2 Роль апоптоза в повреждении гепатоцитов при хронической HBV- и HCV-инфекции

Апоптоз (от греческого apo (отделение) и ptosis (падение)) как запрограммированная гибель клетки является важнейшим физиологическим процессом, посредством которого происходит физиологическое обновление клеточной популяции тканей макроорганизма. Совершенствование технологий в биологии и медицине, позволяющих на новом технологическом уровне изучать важнейшие механизмы жизнедеятельности клетки, в последние десятилетия сделало апоптоз одной из самых актуальных биологических проблем.

Жизненно необходимый при нормальном функционировании, в условиях патологии апоптоз становится важным звеном патогенеза многих инфекционных и неинфекционных заболеваний. Уточнение механизмов нарушения регуляции апоптоза при определенных заболеваниях позволит детально изучить их патогенез и представит возможность коррекции нарушений регуляции запрограммированной гибели клетки [12, 18, 101]. Открытие в 1972 году Kerr J. апоптоза и дальнейшие исследования позволили во многом пересмотреть взгляды на патогенез различных заболеваний, в том числе вирусных гепатитов [8, 24, 69, 203, 253, 291, 347].

Некроз и апоптоз представляют собой концептуально различные формы гибели клетки [114, 344], имеют различную морфологию и последствия. Сложные патогенетические механизмы могут предполагать гибель клетки обоими путями в условиях одного патологического процесса. При вирусном гепатите апоптоз является результатом как прямого воздействия вируса, так и опосредованной иммунной реакцией [8, 141, 161]. Роль гепатотропных вирусов в прямом повреждении гепатоцитов в последние годы является предметом дискуссии. Большинство исследователей показали наличие связи морфологических проявлений в виде «матово-стекловидных» и «песочно-

ядерных» гепатоцитов с наличием антигенов HBV. Первые представляют собой клетки, содержащие HBsAg, а вторые являются морфологическим показателем наличия HBcorAg [338]. Действительно, такие изменения гепатоцитов при хронической HBV-инфекции часто сочетаются с выявлением в таких клетках антигенов HBV, однако встречаются при невирусной патологии печени и не всегда приводят к доказанному их повреждению, как в наблюдениях у бессимптомных «носителей» HBsAg [145]. Дальнейшими исследованиями была показана возможность репликации HBV и HCV в гепатоцитах и отсутствие прямого цитопатического действия вируса гепатита В и слабого цитопатического действия вируса гепатита С [251], проявления которого выражаются в вирусиндуцированном стеатозе [271, 282, 342, 399]. На смену взглядам исследователей о повреждении гепатоцитов гепатотропным вирусом гепатита В путем участия вируса в процессе транскрипции и трансляции с последующим нарушением целостности клеточной мембраны, в последние годы пришло понимание некоторых механизмов апоптоза гепатоцитов с непосредственным участием гепатотропного вируса. Один из возможных механизмов заключается в проапоптозном действии Х-белка вируса гепатита В, значимого в период репликации вируса [354, 398], другой – в повышении содержания проапоптозных рецепторов, в частности Fas, на поверхности инфицированного вирусом гепатита С гепатоцита [294]. Все же непосредственное участие гепатотропных вирусов в развитии апоптоза гепатоцитов, по всей видимости, не определяет всей тяжести повреждения печени, а выявленная способность гепатотропных вирусов посредством различных механизмов (подавление функции проапоптогенного белка p53 и усиленной экспрессией противоапоптозного белка bcl-2, ингибирование митохондриального пути апоптоза сердцевинным белком вируса гепатита С bcl-XL, активация неструктурным белком HCV NS4В ряда факторов, связанных с апоптозом, в том числе bcl-2 в инфицированных клетках)

блокировать апоптоз инфицированного гепатоцита [279, 281, 287, 313] лишь подтверждает это положение.

В качестве основного механизма повреждения гепатоцитов при вирусных гепатитах в настоящее время рассматривается клеточно-опосредованное иммунное повреждение посредством преимущественно цитотоксических Т-лимфоцитов, осуществляющих их апоптоз [58, 150, 187]. Вызывая апоптоз инфицированного гепатоцита, цитотоксические лимфоциты не только достигают клиренса гепатотропных вирусов, но и являются причиной хронического повреждения печени [144, 211, 231, 346]. Подтверждением этого положения является факт инфильтрации преимущественно CD8+ лимфоцитами стромы портальных трактов и паренхимы печени, выявляемой при морфологическом исследовании ткани печени у больных вирусными гепатитами [25], а введение трансгенным мышам, экспрессирующим на поверхности гепатоцитов HBsAg, HBsAg-специфических цитотоксических лимфоцитов в эксперименте вызывало у них апоптоз гепатоцитов [232].

Апоптоз является сложной многоступенчатой системой и может реализоваться посредством различных механизмов. Наиболее хорошо в последние десятилетия изучен механизм запуска процесса апоптоза посредством взаимодействия представителей обширного семейства цитокинов TNF - Fas и FasL с участием цитотоксических лимфоцитов [142, 149, 165, 252, 382]. Этот механизм реализуется при взаимодействии Fas, конституционально экспрессирующегося на поверхности множества клеток-мишеней, как эпителиальных, в том числе на поверхности гепатоцитов, так и неэпителиальных, в том числе на поверхности активированных Т- и В-лимфоцитов с FasL, расположенным на поверхности цитотоксических лимфоцитов и NK. Индукция апоптоза гепатоцитов при хронических вирусных гепатитах Fas/FasL-опосредованным путем доказана в многочисленных исследованиях, когда экспрессия FasL на поверхности лимфоцитов и экспрессия Fas на поверхности гепатоцитов коррелировали с

выраженностью апоптоза гепатоцитов [51, 129, 296, 327] и выраженностью цитолитического синдрома по содержанию сывороточной АлАт, а также выраженностью гистологической активности гепатита [139, 250]. Следует отметить, что FasL существует в двух формах – нерастворимой (мембраносвязанной), то есть расположенной на поверхности клетки, и растворимой (мембранонесвязанной) форме. Такая особенность FasL может приводить к развитию апоптоза без непосредственного участия цитотоксического лимфоцита, и морфологические изменения в таком случае могут характеризоваться отсутствием или минимально выраженной лимфоцитарной инфильтрацией в зоне повреждения гепатоцитов, с чем, по всей видимости, и связано несоответствие уровня апоптоза гепатоцитов, определяемого методом TUNEL выраженности гистологической активности гепатита [8]. Все же чаще выраженность апоптоза гепатоцитов соответствует выраженности гистологической активности хронического гепатита [141, 325], учитывающей и выраженность внутридольковой клеточной инфильтрации. Исходя из концепции гибели клетки путем апоптоза, предусматривающей сохранность клеточной мембраны на всех этапах этого процесса, апоптоз гепатоцитов, в отличие от некроза, не должен вызывать разрушения клетки с выходом ее содержимого во внеклеточное пространство. Вместе с тем, при хронических гепатитах с выраженной гистологической активностью часто наблюдаются клиничко-лабораторные признаки повреждения гепатоцитов (в виде нарастания цитолитического синдрома), что по всей видимости связано с массивностью гибели гепатоцитов при массивном апоптозе и неспособностью макрофагального звена непаренхиматозных клеток печени утилизировать эти подвергшиеся апоптозу клетки, что влечет за собой их аутолиз с выходом цитозольных ферментов и активных веществ и повышению их содержания в крови [139].

Наряду с проапоптозными факторами, наличие которых необходимо для запуска процесса апоптоза клетки, известны противоапоптозные,

ингибирующие процесс апоптоза даже при наличии всех необходимых проапоптогенных компонентов. Наиболее важное значение в патогенезе иммунного клеточно-опосредованного повреждения гепатоцитов при вирусных гепатитах принадлежит bcl-2, который локализуется на наружной мембране митохондрий, на ядерной оболочке и в эндоплазматическом ретикулуме [135] и не влияет на клеточную пролиферацию [312, 365]. В условиях нормы bcl-2 экспрессируется в билиарном эпителии желчных протоков, обеспечивая сохранность клеток билиарного эпителия [293] и не экспрессируется на поверхности гепатоцитов, тем самым предполагая возможность развития в них апоптоза. В условиях патологии данные исследователей о роли bcl-2 в патогенезе хронических вирусных гепатитов неоднозначны. Данные о возможности экспрессии bcl-2 на поверхности гепатоцитов и ее роль в патогенезе при хронических вирусных гепатитах скудные и касаются в основном вопросов гепатоканцерогенеза. Выявленная экспрессия bcl-2 на поверхности гепатоцитов у больных хроническим вирусным гепатитом коррелировала с формированием гепатоцеллюлярной карциномы [260]. Полученные в другом исследовании данные о высокой пролиферативной активности опухолевых клеток и окружающей ее паренхимы печени и высоком уровне экспрессии bcl-2 позволили авторам прийти к заключению о возрастании пролиферативной активности вследствие высокой готовности тканевых лимфоцитов к апоптозу [357].

Таким образом, повреждение гепатоцитов при хронических вирусных гепатитах наиболее часто осуществляется путем апоптоза с иммунным клеточно-опосредованным механизмом реализации и использованием Fas/FasL обусловленного запуска при хроническом воспалительном процессе. Вместе с тем, имеются сведения, что лимфоциты сами подвержены гибели путем апоптоза, тем самым поддерживая гомеостаз. В условиях патологии содержание лейкоцитов в периферической крови значительно возрастает, что было продемонстрировано у больных хроническим вирусным гепатитом В и

С. Такие изменения лейкоцитов периферической крови свидетельствуют о функциональной неполноценности этих клеточных элементов [9, 20, 26, 55, 59, 118, 212, 244]. Такие же закономерности были получены при исследовании функционального состояния внутридольковых лимфоцитов, составляющих основу клеточного инфильтрата паренхимы печени при хронических вирусных гепатитах [25], что имеет существенное значение в их способности повреждать инфицированные гепатоциты, поскольку и сами внутридольковые лимфоциты могут становиться объектом собственного цитотоксического действия FasL. Другими словами, наличие цитотоксических лимфоцитов в паренхиме печени ввиду их разного функционального состояния не всегда будет приводить к повреждению гепатоцитов, что имеет крайне важное значение в интерпретации изменений в ткани печени, выявленных при морфологическом исследовании. В то же время, снижение функциональной состоятельности внутридольковых лимфоцитов может приводить к персистенции гепатотропного вируса [204, 223, 261]. Различная выраженность апоптоза внутридольковых лимфоцитов у больных ХГВ и ХГС, изучаемая по экспрессии на них Fas и FasL [129], по всей видимости, может стать одной из причин различных клинических и морфологических проявлений хронической HBV- и HCV-инфекции.

Кроме того, полученные в последние годы данные о способности вируса гепатита С блокировать апоптоз посредством разных механизмов, может являться важнейшим патогенетическим звеном, определяющим существенные различия течения и исходов хронической HCV-инфекции. Среди таких механизмов исследователями указываются прямое антиапоптотическое действие HCV путем подавления функции белка p53 и инактивации каспаз [313], ингибирование митохондриального пути апоптоза сердцевинным белком вируса гепатита С посредством увеличения экспрессии bcl-XL [281], а также активация ряда факторов, связанных с

апоптозом, в том числе bcl-2 в инфицированных клетках неструктурным белком NS4B HCV [279].

1.3 Регенерация печени при хронической HBV- и HCV-инфекции

Сохранение функции печени обеспечивается контролем численности популяции паренхиматозных клеток. В условиях физиологической нормы, обновление популяции гепатоцитов осуществляется очень медленно, что характеризуется крайне низким уровнем физиологической регенерации [35, 169]. Повреждение печени, влекущее за собой снижение ее функции, может приводить к компенсаторной гипертрофии паренхиматозных клеток, а также к возникновению процессов репаративной регенерации, приводящей к увеличению пролиферативной активности гепатоцитов и восстановлению численности их популяции. Различные компенсаторные процессы в печени, среди которых наибольшее значение принадлежит пролиферации и полиплоидизации гепатоцитов [138] направлены на сохранение функции органа в целом.

В условиях физиологической нормы регенерация гепатоцитов более выражена в перипортальных отделах печеночных долек, являющихся базальными, и, таким образом, самыми молодыми клетками в составе печеночной балки являются гепатоциты перипортальных отделов, а старыми – клетки центролобулярных отделов. Наиболее хорошо регенерация печени изучена на экспериментальной модели частичной гепатэктомии [259], которая наиболее ярко отражает эти закономерности физиологической регенерации печени. Однако в условиях патологии, особенно когда патологические изменения затрагивают перипортальные отделы печеночных долек, пролиферативная активность гепатоцитов, отражающая процессы репаративной регенерации смещается в центролобулярные отделы

печеночных долек [35, 169]. При этом, в паренхиме печени могут формироваться подобия мелких желчных дуктул [236].

Исследования предыдущих лет показали наличие сложных механизмов запуска и регуляции пролиферации гепатоцитов в условиях повреждения печени. Запуск процесса регенераторной пролиферации гепатоцитов осуществляется содержащимися в них транскрипционными факторами - ядерным фактором каппа В (NF- κ B) и сигнальным трансдуктором и активатором транскрипционного протеина 3 (STAT3) [229, 362] посредством сложных механизмов регуляции с участием различных цитокинов, в частности TNF- α , IL-6, HGF (hepatocyte growth factor), EGF (epidermal growth factor), IGF (insulin growth factor) [332, 333]. Крайне важным является факт, что активация ядерного фактора каппа В (NF- κ B), запускающего каскад событий, приводящих к пролиферации гепатоцита осуществляется TNF- α , который синтезируется активированными внутридольковыми макрофагами и эндотелиоцитами [362], то есть повреждение гепатоцитов, с последующей активацией непаренхиматозных клеток печени приводит к началу их регенерации.

Вместе с тем, развитие прогрессирующей печеночной недостаточности при некоторых вариантах течения вирусных гепатитов свидетельствует о несовершенности регенераторной пролиферации в условиях патологии. Изучение пролиферации гепатоцитов у больных острым вирусным гепатитом, хроническим вирусным гепатитом и вирусным циррозом печени [202, 355] показало различный уровень пролиферативной активности гепатоцитов, определяемой по экспрессии PCNA (proliferating cell nuclear antigen) в ядрах пролиферирующих гепатоцитов. У больных острым вирусным гепатитом уровень пролиферации гепатоцитов был наибольшим, у больных хроническим гепатитом был ниже, а минимальная пролиферативная активность гепатоцитов была выявлена у больных циррозом печени. Такая закономерность может быть объяснена наиболее

высоким уровнем повреждения гепатоцитов у больных острым вирусным гепатитом, приводящим к высокому уровню пролиферации гепатоцитов. Вместе с тем, известная роль TGF- β 1 как сильного ингибитора пролиферации гепатоцитов [386], угнетающего пролиферацию и цитотоксичность естественных киллеров [206], и продуцирующегося активированными макрофагами печени для активации звездчатых клеток, может объяснить низкий уровень пролиферации гепатоцитов и нарастание печеночной недостаточности у больных с тяжелым фиброзом печени [367].

Используемый с 1984 года маркер пролиферации Ki-67 для определения пролиферативной активности злокачественных опухолей и прогнозирования течения этих заболеваний [221] показал свою эффективность для выявления пролиферирующих клеток и при других заболеваниях. Несомненной ценностью этого маркера клеточной пролиферации является то, что он экспрессируется лишь в ядрах пролиферирующих клеток [267] с максимальным уровнем выявления в фазах G2 и M [245, 267, 269] клеточного цикла.

Изучение пролиферативной активности гепатоцитов при различных вариантах течения и исходов хронических вирусных гепатитов и при различном уровне повреждения паренхимы печени представляется важным, поскольку она, являясь важным звеном патогенеза, позволяет прогнозировать развитие печеночной недостаточности. Большинство исследователей при изучении пролиферативной активности гепатоцитов при хроническом вирусном гепатите отмечали ее зависимость от гистологической активности [284, 303]. Однако вызывают дискуссию результаты разных исследований о выраженности пролиферативной активности гепатоцитов в зависимости от этиологии хронического гепатита (HBV и HCV) [284, 356]. Цирроз печени вирусной этиологии демонстрировал крайне низкую пролиферативную активность гепатоцитов [76], одной из причин которой исследователями

называется ингибирование пролиферации гепатоцитов TGF β , продуцируемого макрофагами печени [334].

Пролиферация гепатоцитов в физиологических условиях обеспечивает клеточный гомеостаз. В условиях патологии она, как один из компенсаторно-приспособительных механизмов, направлена на восстановление популяции паренхиматозных клеток. Но в условиях нарушения контроля клеточного роста, в частности, при нарушении регуляторной системы, контролирующей G1 фазу клеточного цикла, пролиферация может явиться одним из факторов гепатоканцерогенеза [298, 308]. Роль пролиферативной активности в гепатоканцерогенезе остается неясной. По мнению одних исследователей, повышенная пролиферативная активность гепатоцитов у больных ХГС является одним из факторов риска развития ГЦК [283], по мнению других, в основе развития ГЦК лежат мутация клеток при циррозе печени с последующей их избыточной пролиферацией [284].

1.4 Иммуноморфологические механизмы фиброгенеза печени при хронической HBV- и HCV-инфекции

Фиброз является типовым патологическим процессом, наиболее часто развивающимся в исходе воспалительного процесса. Развитие в последние десятилетия технологий клеточной и молекулярной биологии, достижения в области иммуноморфологических методов исследования позволяют изучать сложные механизмы регуляции фиброгенеза и фиброза печени и совершенствовать их диагностику и прогноз [54, 71, 111, 198].

Патологическое накопление протеинов внеклеточного матрикса, лежащее в основе фиброза печени и проявляющегося яркими морфологическими и клиническими изменениями, является закономерным результатом постоянного повреждения паренхимы печени, характерного для большинства

хронических диффузных заболеваний печени [1, 4, 152, 163, 218, 370, 379]. Фиброз печени развивается при инфекционных (наиболее часто вызванных гепатотропными вирусами гепатита В и С), аутоиммунных (аутоиммунный гепатит, первичный билиарный цирроз и другие) и метаболических заболеваниях печени (Болезнь Вильсона с избыточным накоплением меди, гемохроматоз с избыточным накоплением железа), а также при некоторых других.

Продолжительность повреждения паренхимы печени, вызывающая стойкие нарушения регуляторных механизмов коллагенообразования является важным фактором в развитии клинически значимого фиброза печени. Основные факторы, значимые в патологическом фиброгенезе представлены хроническим воспалением, пролиферацией макрофагального звена стромы органа и активацией миофибробластов, избыточно экспрессирующих коллаген с формированием патологического внеклеточного матрикса [1, 70, 128, 200, 208, 228, 255, 259, 316].

Производство коллагена в паренхиме печени осуществляют миофибробласты, трансформирующиеся из звездчатых клеток печени в случае их активации. Звездчатые клетки печени (stellate cells, липоциты, жирозапасающие клетки, витамин А запасающие клетки, перисинусоидальные клетки, клетки Ито), доля которых составляет до 22% популяции непаренхиматозных клеток печени [390], характеризуются полиморфным фенотипом, отличающимся особенностями цитоскелета, содержанием ретиноидов и выраженностью активации в зависимости от конкретных условий. Активация звездчатых клеток сопровождается снижением и утратой функции сохранения ретиноидов, повышением пролиферативных свойств и приобретением ими свойств миофибробластов с синтезом коллагена [255, 268, 275, 276, 360, 397]. Получены данные о полиморфизме звездчатых клеток в процессе фиброгенеза, когда часть популяции звездчатых клеток сохраняет способность депонировать

ретиноиды, сохраняя свое участие в метаболизме [3]. Активация звездчатых клеток представляет собой стадийный процесс, включающий стадию инициации и стадию длительной активности клеток [256, 259]. В ответ на возникающее повреждение паренхимы печени, сопровождающееся экспрессией разнообразных цитокинов, развивается стадия инициации звездчатых клеток, отвечающих на воздействие цитокинов. Среди паракринных стимулов инициации звездчатых клеток, возникающих при повреждении паренхимы печени и высвобождающихся из гепатоцитов, эндотелиальных клеток, макрофагов, лимфоцитов и тромбоцитов наиболее важное значение принадлежит активным формам кислорода (АФК), альдегидам, тромбоцитарному фактору роста (PDGF), фактору роста фибробластов (FGF), инсулиноподобному фактору роста-1 (IGF-1), трансформирующему фактору роста β (TGF β), фактору некроза опухоли (TNF- α), интерлейкину-1 (IL-1), интерферону- γ (IFN- γ). Они обладают пролиферативными стимулирующими свойствами, направленными на пролиферацию звездчатых клеток, а также на синтез ими и высвобождение компонентов внеклеточного матрикса, в том числе коллагена I типа [90, 207, 213, 248, 298, 310, 345, 389]

Наиболее важное значение в регуляции фиброгенеза печени принадлежит трансформирующему фактору TGF β 1, наибольшее количество которого синтезируется внутрипеченочными макрофагами. В случае повреждения паренхимы печени активированные макрофаги печени (Купферовские клетки), путем продукции TGF β 1, стимулирующего активацию звездчатых клеток, способствуют избыточному синтезу активированными звездчатыми клетками коллагена, в том числе откладывающегося в пространстве Диссе, вызывая феномен «капилляризации синусоидов» [52, 222, 274, 301]. Большинство исследователей отмечают миграцию внутريدольковых печеночных макрофагов в зоны повреждения печеночной дольки, и

наибольшую выраженность здесь активации звездчатых клеток [205, 246, 265, 314, 373].

В условиях физиологической нормы постоянно протекающие процессы продукции коллагена, формирующего экстрацеллюлярный матрикс, уравниваются действием цитокинов с противофиброзными свойствами, среди которых следует упомянуть IL-4, IL-10, IFN- γ и IFN- β . Однако в условиях хронического воспаления уровень экспрессии противофиброзных цитокинов IFN- γ и IL-10, как это было показано при исследовании биоптатов печени больных с циррозом печени, вызванных вирусом гепатита С не в состоянии предотвратить более выраженные процессы фиброгенеза [230].

Активированные звездчатые клетки печени, в отличие от покоящихся, изменяют свой фенотип и приобретают способность экспрессировать гладкомышечный актин альфа (α -SMA). По мнению исследователей, изменение фенотипа звездчатых клеток, экспрессирующих α -SMA, свидетельствует о запуске процессов фиброгенеза в печени [317, 319, 359, 400]. Известны 6 различных изоформ актина, 4 из которых экспрессируются в мышечной ткани, а именно α -кардиальный, α -актин скелетных мышц, α - и γ -гладкомышечный, а β - и γ -цитоплазматические экспрессируются в клетках большинства типов. Клетки печени мезенхимального происхождения, среди которых следует отметить звездчатые клетки печени, миофибробласты центральных дольковых вен, миофибробласты и фибробласты портальных трактов, экспрессируют α -гладкомышечную изоформу актина [116, 205]. Продолжающееся повреждение способствует переходу звездчатых клеток в устойчивое активное состояние, документируемое экспрессией ими α -SMA и продукции ими коллагена [3, 259], приводящее к прогрессированию фиброза печени.

Фиброз печени, по всей видимости, является типовым патологическим процессом со сходными свойствами образующейся соединительной рубцовой ткани в его исходе и может вызываться различными

этиологическими факторами (вирусными, токсическими, аутоиммунными, метаболическими и др.) при условии длительно сохраняющегося повреждения паренхимы печени [1, 208]. Процесс патологического фиброгенеза характеризуется переходом мембраноподобного матрикса с низкой плотностью, содержащего коллагены IV и VI типов, к содержащему большое количество коллагенов I и III типов фибринформирующему матриксу. Более ранними исследованиями был изучен механизм разрушения избыточного внеклеточного матрикса посредством металлопротеиназы матрикса, синтезируемой внутридольковыми макрофагами и активированными звездчатыми клетками [239, 337], а также механизмы ингибции металлопротеиназ. Подобные исследования проводятся и последние годы, при этом изучаются содержание сывороточных металлопротеиназ и ингибиторов металлопротеиназ у больных как с острым повреждением печени [197], так и у больных с хроническим гепатитом C с различной степенью фиброза печени [45, 159]. Хрупкое равновесие профиброгенных и противофиброгенных факторов, экспрессирующихся при длительном повреждении печени, может при преобладании фиброгенных факторов, в частности при преобладании синтеза внеклеточного матрикса над процессами его деградации [151], приводить к запуску процессов фиброгенеза и к прогрессированию фиброза печени.

Прогрессирование фиброза печени, а также резорбция избыточной соединительной ткани может быть осуществлена при устранении хронического повреждения паренхимы печени, соответственно, снижения уровня стимулирующих сигналов от внутридольковых макрофагов, следующего за ним снижения уровня активации звездчатых клеток, а также сокращения их популяции путем апоптоза, как это было показано в экспериментальных работах, когда звездчатые клетки экспрессировали избыточное количество проапоптозных и противоапоптозных генов [220] и были чувствительны к FasL [394]. Возможность обратного развития фиброза

печени может лежать в основе разработке этиотропной и патогенетически обоснованной терапии [2, 19, 33, 66, 94, 111, 258, 326, 377].

Таким образом, сложные межклеточные взаимоотношения внутри печеночной долики, осуществляемые посредством экспрессируемых клетками-участниками событий биологически активных веществ при длительном повреждении паренхимы печени могут приводить к избыточной патологической продукции коллагенов, к изменению внеклеточного матрикса и изменению нормальной структуры и функции органа. Вместе с тем, процессы фиброгенеза в печени неотрывно связаны с другими крайне важными патогенетическими компонентами хронического воспалительного процесса в печени, в частности, с пролиферацией паренхиматозных клеток и апоптозом [208].

Определение иммуногистохимического маркера активности звездчатых клеток позволило Янг-О. Квеон и соавт. [151] выявить четкую зависимость между экспрессией α -SMA, сывороточным содержанием аланинаминотрансферазы и степенью выраженности фиброза. Высказано предположение, что иммуногистохимический маркер активности звездчатых клеток α -SMA является более чувствительным тестом, чем условная окраска фиброза [234, 272]. В тоже время ряд исследователей не отмечают связи между уровнем экспрессии α -SMA и тяжестью фиброза [233].

1.5 Морфологические особенности хронической HBV- и HCV-инфекции

Не смотря на часто общие клинико-морфологические изменения различных форм хронических вирусных гепатитов, особенности морфологических изменений печени во многом определяются этиологией. Диагноз заболевания устанавливается с учетом клинических,

морфологических и серологических признаков [127, 158, 241, 289, 300, 320, 322, 323, 372, 381]. Разные этиологические формы хронических вирусных гепатитов характеризуются наличием общих морфологических признаков, которые могут быть выявлены с помощью рутинных методов исследования с использованием световой микроскопии, а также при применении иммуногистохимических методов [235]. Портальная воспалительная инфильтрация стромы портальных трактов характерна для всех форм хронических гепатитов, клеточная инфильтрация может быть полиморфной с преобладанием Т-лимфоцитов, а также плазматических клеток, гистиоцитов и макрофагов, при распространении за пределы портальных трактов вглубь печеночных долек знаменующая развитие перипортального, или активного гепатита [235]. Наличие в составе клеточной инфильтрации стромы портальных трактов и паренхимы печени цитотоксических лимфоцитов, натуральных киллеров и макрофагов свидетельствуют об аутоагрессии иммунной системы [304, 383]. Для хронических гепатитов характерны альтеративно-пролиферативные изменения билиарного эпителия желчных протоков, включающие в себя дегенеративные изменения клеток билиарного эпителия, стратификацию эпителиального пласта, а также внутриэпителиальную лимфоцитарную инфильтрацию при сохранности базальной мембраны [236, 380]. Внутридольковое повреждение, характеризующееся диссеминированным лизисом или апоптозом гепатоцитов, вызывает закономерную макрофагальную реакцию, а в последствии - развитие регенерации гепатоцитов и фиброза. Соотношение дистрофических изменений гепатоцитов, холестаза, характера и распространенности повреждения гепатоцитов и фиброза характеризует морфологическую картину хронического гепатита [235].

Несмотря на наличие типовых изменений, общих для всех хронических гепатитов, имеются отличительные признаки, характерные для различных этиологических форм. Наиболее частыми микроскопическими изменениями

гепатоцитов при хроническом вирусном гепатите В, на основании многочисленных литературных данных [77, 145, 235, 300, 381], являются полиморфизм и гиперхроматоз ядер, наличие в них матово-оксифильных внутриядерных включений («песочные ядра»), а также матово-оксифильная окраска конденсированной цитоплазмы («матово-стекловидные гепатоциты»). Для хронического вирусного гепатита С, по мнению большинства исследователей не специфичными, но патогномичными признаками являются жировая дистрофия гепатоцитов, обильная лимфоцитарная инфильтрация стромы портальных трактов, иногда с формированием лимфоидных фолликулов [61], а также повреждение желчных протоков [300, 335, 380]. Данные исследователей свидетельствуют о наличии стеатоза печени не менее чем у 50% больных хроническим гепатитом С [214, 216, 282, 384, 385] и в 2,5 раза чаще, чем при других заболеваниях печени [282]. Наиболее тяжелый стеатоз печени и выраженное повреждение билиарного эпителия исследователи выявляли у больных хроническим гепатитом С, инфицированных 3 генотипом [201, 286]. Отдельные группы исследователей [130] рассматривают мелковезикулярный стеатоз гепатоцитов, наряду с пролиферативными изменениями билиарного эпителия, предикторами фиброза печени, в то время как другие исследователи такой зависимости не выявили [78].

Внутридольковая клеточная инфильтрация, будучи элементом типового патологического процесса, приводящего к иммуноопосредованному повреждению гепатоцитов, и в последующем выполняя функцию элиминации погибших гепатоцитов, не является специфическим признаком различной этиологической принадлежности. Для хронического гепатита С, который даже при минимальной гистологической активности характерно наличие пролиферирующих (гиперплазированных) купферовских клеток, описанных в литературе [11, 77, 235]. Увеличенные в размерах и хорошо заметные при изучении с использованием рутинных гистологических

окрасок в проходящем свете внутрипеченочные внутридольковые макрофаги расположены вдоль синусоидов в виде своеобразных «цепочек». Вместе с тем, использование рутинных гистологических окрасок не может дать полного представления об истинных морфологических изменениях резидентных макрофагов, выявляющихся лишь при иммуногистохимическом исследовании с применением специфических антител [187].

Изменения гепатоцитов при хроническом вирусном гепатите обусловлены прямым воздействием гепатотропного вируса и неспецифическими вторичными изменениями, развивающимися в ходе реализации комплекса разнообразных типовых патологических процессов. Дифференциальная диагностика таких поражений, равно как и суждения об обратимости или необратимости таких изменений крайне затруднительны. Кроме того, отдельно взятые изменения гепатоцитов не являются строго специфическими для хронического вирусного гепатита, в таком случае они могут иметь диагностическую ценность лишь в совокупности с другими морфологическими изменениями. По всей видимости, зернистая дистрофия гепатоцитов, обусловленная увеличением числа митохондрий в клетках в условиях повышенной функциональной нагрузки [145, 390], являясь морфологическим проявлением компенсаторной реакции, не может рассматриваться в качестве специфического проявления вирусного гепатита. Несмотря на тот факт, что антигены гепатотропных вирусов наиболее часто экспрессируются в гепатоцитах с морфологическими проявлениями обратимых и необратимых расстройств белкового обмена, и развитие клеточной дистрофии, вероятно, связано с жизнедеятельностью гепатотропных вирусов, все известные виды белковой дистрофии гепатоцитов наблюдались и в гепатоцитах без признаков экспрессии в них антигенов гепатотропных вирусов, а также при заболеваниях печени невирусной природы [95]. Таким образом, белковая дистрофия гепатоцитов, как обратимые ее формы так и необратимые, приводящие к гибели клетки,

являются проявлением неспецифического типового патологического процесса, характеризующего повреждение гепатоцитов при хронических вирусных гепатитах В и С. Дистрофические изменения гепатоцитов в связи с этим не могут рассматриваться как специфический признак вирусного поражения, но отражают глубину повреждения печеночной ткани, в том числе и при ХВГ.

Появление в печени «апоптотических телец», являющихся морфологическим доказательством свершившегося апоптоза гепатоцитов, по мнению исследователей [8, 61], является характерным признаком вирусного гепатита. «Апоптотические тельца» представляют собой фрагментированную эозинофильную цитоплазму клетки, окруженную клеточной мембраной, как правило, содержащую фрагмент или фрагменты разрушенного базофильно окрашенного ядра. Наличие сохранной клеточной мембраны, окружающей фрагменты погибшей клетки, обеспечивает отсутствие в печени неспецифического экссудативного гнойного воспаления, обусловленного привлечением в очаг повреждения нейтрофильных лейкоцитов.

Жировая дистрофия гепатоцитов разделяется на основе морфологических особенностей в виде размеров жировых вакуолей на мелкокапельную, среднекапельную и крупнокапельную. Мелкокапельное ожирение гепатоцитов, наиболее часто как проявление дегенеративных процессов в клетке, встречающееся при остром токсическом повреждении гепатоцитов и остром вирусном гепатите, для хронических форм вирусного гепатита не характерно. Среднекапельная или крупнокапельная жировая дистрофия гепатоцитов (стеатоз печени) в виде наличия жировых вакуолей среднего или крупного размеров в цитоплазме гепатоцитов, рассматривается в связи со злоупотреблением алкоголем. Вместе с тем, по данным ряда исследователей [77, 145] стеатоз печени может развиваться при употреблении некоторых лекарственных препаратов или при системных нарушениях жирового или углеводного обмена разной природы. Являясь обратимой формой дистрофии

клетки, стеатоз печени у злоупотребляющих алкоголем пациентов, даже при выраженной распространенности, не приводит к развитию клинико-биохимических нарушений в функционировании печени и претерпевает обратное развитие при воздержании от воздействия этиологического фактора (алкоголя) уже в течение полугода [77]. В литературе последних десятилетий, со времени идентификации вируса гепатита С, одним из патогенетически обусловленных дифференциально-диагностических морфологических признаков ХГС рассматривается жировая дистрофия гепатоцитов [61, 335]. Из предоставляемых авторами таких исследований анамнестических данных о пациентах, входящих в исследованные группы, обычно невозможно провести анализ частоты употребления (злоупотребления) ими алкоголя. Алкогольный гиалин (тельца Мэллори), по мнению некоторых авторов выявляемый у больных хроническим алкоголизмом, образуется также и в гепатоцитах больных целым рядом заболеваний неалкогольной этиологии, в частности – при сахарном диабете, болезни Вильсона-Коновалова, первичном билиарном циррозе и многих других [145], и, таким образом, не может рассматриваться как убедительный признак алкогольной природы страдания печени.

Наиболее постоянным признаком хронического вирусного гепатита, по мнению исследователей, являются флебиты центральных (печеночных) вен [77, 181, 235]. Патогенетические механизмы их развития до конца неизвестны, рассматривается роль гепатотропных вирусов в качестве альтеративного агента, приводящего к вторичному клеточно-опосредованному иммунному повреждению.

Ложные желчные ходы, наиболее характерные лишь для поздних сроков острого вирусного гепатита и цирротической стадии хронического гепатита, представляют собой активно пролиферирующие гепатоциты, дифференцирующиеся из камбиальных клеток базальных отделов печеночных долек. Они функционально незрелы, но способны

продуцировать желчь и формировать подобия примитивных трубочек, однако слепо заканчивающихся и формирующих своеобразные холестазаы [77, 236]. Формирование ложных желчных является проявлениями регенераторной пролиферации и текущей дифференцировки низкоспециализированных камбиальных базальных клеток печеночной дольки под воздействием мощной стимуляции, развивающейся при массивной гибели гепатоцитов или значительного сокращения популяции гепатоцитов со снижением их функции [236].

Таким образом, морфлогические изменения в печени на разных этапах естественного течения, характеризуются наличием общих гистологических признаков, являющихся проявлением типовых патологических процессов.

Несмотря на широкий интерес исследователей и всестороннее изучение в последние десятилетия различных аспектов патогенеза хронической HBV- и HCV-инфекции, нерешенными остаются многие вопросы, связанные как с патогенными свойствами гепатотропных вирусов, так и с характером и закономерностями развития иммунопатологических процессов, приводящих к прогрессии повреждения печени и фиброза в ходе естественного течения этих инфекций. Данные разных исследователей о эпидемиологических и клинических аспектах, частоте развития неблагоприятных исходов хронической HBV- и HCV-инфекции, значительно различаются, что отчасти обусловлено региональными, в том числе социальными и экономическими особенностями распространения инфекционного процесса. Многочисленными клиническими, клинико-морфологическими и экспериментальными исследованиями показана несомненная роль фазы биологического цикла гепатотропных вирусов, а также важная роль клеточного звена иммунитета в прогрессировании повреждения печени. Вместе с тем, не получено убедительных данных, объясняющих, более частое при хронической HCV-инфекции, несоответствие клинико-лабораторных показателей активности патологического процесса (по уровню выраженности

цитолитического синдрома) морфологическим изменениям в печени. Остаются не выясненными причины более выраженного цитолитического синдрома у больных ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV при сопоставимой гистологической активности. Изучению апоптоза посвящены многочисленные исследования, изучались прямые маркеры апоптоза гепатоцитов, экспрессия про-и антиапоптозных факторов на поверхности паренхиматозных клеток, а также на поверхности лимфоцитов периферической крови. Однако недостаточно освещены вопросы апоптоза внутридольковых лимфоцитов, роль которых в клеточно-опосредованном иммунном повреждении гепатоцитов признается большинством исследователей. Регенераторная способность печени, равно как и пролиферативный потенциал новообразований является предметом многочисленных разносторонних клинических и экспериментальных исследований, вместе с тем, в современных литературных источниках нет сравнительных данных о пролиферативной активности паренхиматозных и непаренхиматозных клеток на всех этапах естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции. Предметом многочисленных дискуссий на протяжении многих лет являются данные о значимости тех или иных морфологических изменений в печени и критерии дифференциальной морфологической диагностики хронических диффузных заболеваний печени. Высокий интерес у исследователей вызывают механизмы фиброгенеза в печени, исследования направлены на выявления причин различной скорости фиброза печени как в рамках одной этиологической группы (обусловленной HBV или HCV), так и в сравнении между разными этиологическими группами на разных этапах естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции, и однозначных данных, полностью характеризующих эти процессы, не получено.

Таким образом, несмотря на многочисленные разносторонние исследования патогенеза хронической HBV- и HCV-инфекции, нерешенными

остаются многие вопросы, связанные с характером и закономерностями развития иммунопатологических процессов, приводящих к прогрессии повреждения печени и фиброза в ходе их естественного течения, а также их клинической и морфологической диагностики.

ГЛАВА 2 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование выполнено в 2002–2015 гг. В ФГБУ «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства».

Детальный анализ клинических, лабораторных и морфологических данных осуществлялся у 254 человек, страдающих различными проявлениями хронической HBV- и HCV-инфекции в ходе естественного течения и находящихся на стационарном лечении в СПбКИБ им. С.П. Боткина (Таблица 2.1).

Таблица 2.1 – Характеристика исследованных групп пациентов

группы пациентов	n	ср. возраст, лет	пол муж/жен
Больные ХГВ	57	21,67±7,69	57/0
Больные ХГС	110	25,5±9,2	83/27
Больные, умершие от ЦПВ	25	67,8±5,3	25/0
Больные, умершие от ЦПС	26	46,04±13,59	16/10
Больные, умершие от ГЦКВ	19	56,05±9,02	19/0
Больные, умершие от ГЦКС	17	61,11±13,99	17/0
ВСЕГО	254		217/37

Для проведения сравнительного анализа причин смерти от декомпенсированного ЦПВ и ЦПС в зависимости от этиологии проведен ретроспективный анализ медицинской документации (протоколов патологоанатомического вскрытия) у 188 умерших от ЦПВ и 98 умерших от ЦПС.

Для выявления клинических, эпидемиологических, лабораторных и морфологических особенностей ХГВ и ХГС методом слепой выборки сформированы две группы пациентов, и проанализирована медицинская документация (медицинская карта стационарного больного) 57 больных ХГВ (мужчин со средним возрастом 21,67±7,69 лет), 110 больных ХГС (мужчин - 75,4%, средний возраст составил 23,0±6,5; женщин - 24,6%, средний возраст 32,9±11,9 лет). В исследуемые группы пациентов не включали лиц, у

которых определялись антитела к вирусу иммунодефицита человека, антигены и антитела к вирусам гепатита А и D. Пациенты из изучаемых групп в период наблюдения не употребляли алкоголь и психотропные препараты и находились на стационарном обследовании и лечении по поводу ХВГ, где им была выполнена чрескожная пункционная биопсия печени с последующим морфологическим исследованием. Больным проводилось углубленное комплексное обследование: подробный сбор анамнестических данных, клинический осмотр, общеклинические анализы крови и мочи, биохимическое исследование крови, исследование крови на специфические маркеры вирусных гепатитов, УЗИ органов брюшной полости и фиброэзофагогастродуоденоскопия. При биохимическом исследовании крови определялись: содержание билирубина и его фракций, общего белка, альбумина, глобулинов, активность АлАТ и АсАТ, щелочной фосфатазы, титр тимоловой пробы (унифицированным методом Мак-Лагана), протромбиновый индекс (по Квику в модификации В.Н. Туголукова) и содержание белковых фракций методом электрофореза с определением альбумино- γ -глобулинового коэффициента.

Определение специфических маркеров ВГ (HBsAg, анти-HBcIgM, HBeAg, анти-HBe, анти-HCV) проводилось в твердофазном ИФА с использованием как отечественных (СПНИИЭМ им. Пастера, ЗАО «Вектор-Бест»), так и импортных тест-систем («Organon Teknika» Голландия, «Murex» Великобритания, «Orgenics» Израиль). Большинство серологических исследований осуществлялось в Санкт-Петербургском городском диагностическом (вирусологическом) центре (главный врач – к.м.н. С.С. Вашукова).

Выявление генома вируса гепатита В (ДНК) методом ПЦР проводилось в лаборатории молекулярно-биологических исследований Санкт-Петербургской 31-ой городской больницы (заведующий – к.м.н. А.В. Лыщов). При выделении ДНК использовался стандартный набор реактивов

фирмы «Qiagen» (США), который позволял получить максимально очищенную ДНК из сыворотки крови. Проводилось также выделение ДНК HBV методом ПЦР в парафиновых срезах биоптатов печени. После депарафинизации и депротеинизации образцов осуществлялось дальнейшее выделение ДНК и постановка ПЦР с положительным и отрицательным контролем. Анализ амплификата проводился в 7% полиакриламидном геле. Образцы, размеры которых совпадали с размером положительного контроля, расценивались как положительные. У части больных использовался метод ПЦР для выявления в сыворотке крови нуклеиновых последовательностей РНК-содержащего вируса гепатита С с использованием реагентов «Амплиценс» ЦНИИ эпидемиологии МЗРФ (г. Москва, Россия).

Аспирационная биопсия печени проводилась слепым чрескожным методом по Менгину после изучения функции свертывающей системы крови и УЗИ органов брюшной полости. Пункция выполнялась натошак в положении пациента «лежа на спине с запрокинутой за голову правой рукой» в IX межреберье между средней и передней подмышечными линиями под местной анестезией 0,5% раствором новокаина с использованием одноразового набора для аспирационной биопсии «Нераfix» (Германия). Биоптаты печени, полученные при чрескожной пункционной биопсии фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина. Обезвоживание образцов ткани проводили путем проводки в восходящих спиртах по общепринятой методике, после чего фрагменты ткани печени заливали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 4-5 мкм изготавливали при помощи санного микротомы, окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону. Диагноз ХГВ и ХГС устанавливался на основании клинико-анамнестических, клинико-лабораторных и морфологических данных и подтверждался выявлением в сыворотке крови антител к вирусу гепатита С и антигенов и/или антител к вирусу гепатита В.

Биоптаты печени больных ХГС (110 человек) и ХГВ (57 человек) подвергались полуколичественной оценке гистологической активности хронического гепатита (ИГА) по R.G. Knodell и соавт., 1981 [254], Таблица 2.2.

Таблица 2.2 – Распределение больных ХГС и ХГВ по тяжести гистологической активности хронического гепатита (ИГА по R.G.Knodell, 1981)

ИГА	ХГС (n=110)			ХГВ (n=57)		
	Абс.	%	Ср. ИГА	Абс.	%	Ср. ИГА
ИГА 1-3 балла	17	15,4	2,1±0,8	19	33,4	2,57±0,4
ИГА 4-8 баллов	37	33,6	6,9±1,1	22	38,6	6,04±0,99
ИГА 9-12 баллов	48	43,7	10,9±0,9	10	17,5	10,2±1,13
ИГА 13-18 баллов	8	7,3	13,7±0,5	6	10,5	13,83±0,4
ИГА (все пациенты)	110	100	8,43±3,53	57	100	7,78±4,08

Степень выраженности фиброза, определяемая полуколичественным методом по шкале R.G. Knodell и соавт., 1981 [254] в изучаемых группах больных ХГС и ХГВ представлена в Таблице 2.3.

Таблица 2.3 – Распределение больных ХГС и ХГВ по степени выраженности фиброза печеночной ткани

Степень выраженности фиброза	ХГС (n=110)		ХГВ (n=57)	
	Абс.	%	Абс.	%
Отсутствие фиброза (F=0 баллов)	23	20,9	25	43,8
Расширение портальных трактов за счет фиброза (F=1 балл)	80	72,7	22	38,6
Наличие фиброзных септ (F=3 балла)	6	5,5	9	15,9
Наличие цирроза (F=4 балла)	1	0,9	1	1,7

Для выявления клинических, эпидемиологических, лабораторных и морфологических особенностей декомпенсированного ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV, как неблагоприятных исходов хронической HBV- и HCV-инфекции, методом слепой выборки сформированы группы больных, госпитализированных и умерших в СПб клинической инфекционной больнице им. С.П. Боткина. Умершие от ЦПВ (25 человек, средний возраст 67,8±5,3 лет), от ЦПС (26 человек, средний возраст 46,04±13,59 лет), от ГЦК, ассоциированной с HBV (19 человек, средний возраст 56,05±9,02 лет) и от ГЦК, ассоциированной с HCV (17 человек, средний возраст 61,11±13,99 лет) подвергались патологоанатомическому

вскрытию в патологоанатомическом отделении СПбКИБ им. С.П. Боткина. Патологоанатомические вскрытия производились с учетом требований к их проведению у умерших от инфекционных заболеваний. Вскрытия осуществлялись патологоанатомами ПАО КИБ им. С.П. Боткина, 25% вскрытий производились автором. В ходе патологоанатомического вскрытия проводился отбор аутопсийного материала для гистологического и других посмертных исследований. Для гистологического исследования осуществлялся отбор от 20 до 50 кусочков внутренних органов и тканей трупа. Отбор ткани печени производился по методике Ю.Н. Даркшевича [52], позволяющей исследовать все отделы органа. Кусочки органов и тканей фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина, подвергали спиртовой проводке, заливке в парафин по общепринятым методикам. Парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали обзорными гистологическими красителями (гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону). Использовались гистохимические окраски : судан III на жиры, ШИК-реакция по Шабадашу на гликоген и нейтральные мукополисахариды, конго-красный для выявления амилоида, окраска по Перлсу для выявления железа, по Кисели для выявления слизи.

Аутопаты печени больных ЦПС (26 человек) и ЦПВ (25 человек), ГЦКС (17 человек) и ГЦКВ (19 человек) были подвергнуты полуколичественной оценке гистологической активности хронического гепатита (ИГА) по R.G. Knodell и соавт., 1981 [254], результаты которой представлены в Таблице 2.4 и 2.5.

Таблица 2.4 – Распределение пациентов, умерших от ЦПС и ЦПВ по тяжести гистологической активности хронического гепатита (ИГА по R.G.Knodell, 1981)

ИГА	ЦПС (n=26)			ЦПВ (n=25)		
	Абс.	%	Ср. ИГА	Абс.	%	Ср. ИГА
ИГА 1-3 балла	0	-	-	0	-	-
ИГА 4-8 баллов	1	3,9	8,0	0	-	-
ИГА 9-12 баллов	16	61,5	10,62±0,7	17	68,0	11,23±0,5
ИГА 13-18 баллов	9	34,6	14,0±1,58	8	32,0	13,84±1,3
ИГА (все пациенты)	26	100,0	11,69±2,0	25	100,0	12,2±2,2

Таблица 2.5 – Распределение пациентов, умерших от ГЦКС и ГЦКВ по тяжести гистологической активности хронического гепатита (ИГА по R.G.Knodell, 1981)

ИГА	ГЦКС (n=17)			ГЦКВ (n=19)		
	Абс.	%	Ср. ИГА	Абс.	%	Ср. ИГА
ИГА 1-3 балла	0	-	-	0	-	-
ИГА 4-8 баллов	0	-	-	0	-	-
ИГА 9-12 баллов	8	47,0	12,0±0,0	5	26,3	11,8±0,4
ИГА 13-18 баллов	9	53,0	13,66±0,5	14	73,7	13,1±0,9
ИГА (все пациенты)	17	100,0	12,88±0,9	19	100,0	12,2±2,2

Иммуногистохимические исследования проводились в образцах ткани печени, полученных при биопсии у 29 больных ХГВ, 29 больных ХГС, а также в образцах печени, полученных при аутопсии у 5 умерших от ГЦК, ассоциированной с HBV, 5 умерших от ГЦК, ассоциированной с HCV, 5 умерших от декомпенсированного ЦПВ и 5 умерших от декомпенсированного ЦПС. Иммуногистохимические исследования выполнялись в срезах ткани печени, изготовленных из парафиновых блоков. Срезы ткани печени толщиной 4–5 мкм помещались на предметные стекла, предварительно обработанные адгезивом. Иммуногистохимическое окрашивание срезов ткани печени производилось с использованием высокочувствительного и высокоспецифичного полимерного метода (тест-система EnVision, DAKO, США) согласно рекомендациям изготовителя. Применялись мышинные моноклональные антитела к CD4 (в разведении 1/40), CD8 (в разведении 1/40), CD68 (в разведении 1/80), CD31 (в разведении 1/80), Ki-67 (в разведении 1/200), α -SMA (в разведении 1/50), Fas (в разведении 1/80), FasL (в разведении 1/50), bcl-2 (в разведении 1/80), NS3HCV (в разведении 1/50), HBsAg (в разведении 1/100) производства Novocastra Laboratories Ltd (Великобритания). При проведении иммуногистохимических исследований использовался позитивный и негативный контроль.

Изучение гистологических и иммуногистохимических препаратов осуществлялось с использованием светоптического микроскопа БИМАМ

P-11. Качественная оценка состояния печени проводилась в срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону.

Помимо качественной оценки состояния печени проводились гистоморфометрические исследования с использованием полуколичественных и количественных методов. Полуколичественно оценивали активность и стадию патологического процесса в печени. Осуществлялось определение индекса гистологической активности хронического гепатита (ИГА), предложенного R.G. Knodell и соавт. в 1981 г. [254], включающего в себя характеристику альтеративно-экссудативных изменений (grading) в перипортальных отделах, внутри печеночных долек и в портальных трактах, выражаемую в баллах (Таблица 2.6).

Таблица 2.6 – Составные компоненты индекса гистологической активности (ИГА) по R.G. Knodell и et al., 1981 [254]

Группа признаков	Характеристика проявлений	Оценка, баллы
I. Портопери-портальные некрозы	Отсутствуют	0
	Слабо выраженные ступенчатые некрозы	1
	Умеренно выраженные ступенчатые некрозы, занимающие менее 50% окружности большинства портальных трактов	3
	Обширные ступенчатые некрозы, занимающие более 50% окружности большинства портальных трактов	4
	Умеренно выраженные ступенчатые + мостовидные некрозы	5
	Обширные ступенчатые + мостовидные некрозы	6
	Мультилобулярные некрозы	10
II. Внутридольковые фокальные некрозы и дистрофия гепатоцитов	Отсутствуют	0
	Слабо выраженные (ацидофильные тельца, балонная дегенерация и/или рассыпанные фокусы гепатоцеллюлярных некрозов в менее чем 1/3 долек или узлов	1
	Умеренно выраженные, захватывающие 1/3–2/3 долек или узлов	3
	Значительно выраженные, захватывающие более 2/3 долек или узлов	4
III. Портальное воспаление	Отсутствует	0
	Слабо выраженное (воспалительная инфильтрация в менее 1/3 трактов)	1
	Умеренно выраженное (воспалительная инфильтрация в 1/3-2/3 трактов)	3
	Значительно выраженное (воспалительная инфильтрация более чем в 2/3 трактов)	4
IV. Фиброз	Фиброз отсутствует	0
	Расширение портальных трактов за счет фиброза	1

Группа признаков	Характеристика проявлений	Оценка, баллы
	Мостовидный фиброз (порто-портальные или порто-центральные септы)	3
	Цирроз	4

Для полуколичественной оценки стадии заболевания (степени выраженности фиброза) проводилось определение гистологического индекса стадии заболевания (staging), выражаемого в баллах, предложенного V.J. Desmet [73] у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV (Таблица 2.7).

Таблица 2.7 – Составные компоненты гистологического индекса стадии заболевания по V.J. Desmet et al., 1994 [46]

Характеристика изменений	Оценка, баллы
Фиброз большинства портальных трактов, их расширение	1-2 балла
Фиброз большинства портальных трактов с их расширением и сегментарный перипортальный фиброз	3-4 балла
Синусоидальный фиброз большинства долек	1-4 балла
Фиброз с образованием порто-портальных септ (более 1)	5-8 баллов
Фиброз с образованием порто-центральных септ (более 1) и нарушением строения печени	9-12 баллов
Фиброз с образованием септ и ложных долек	13-16 баллов

V.J. Desmet и соавт. выделяют 4 стадии заболевания в зависимости от степени выраженности фиброза: 1 стадия (слабый фиброз) – от 1 до 4 баллов; 2 стадия (умеренный фиброз) – от 5 до 8 баллов; 3 стадия (тяжелый фиброз) от 9 до 12 баллов; 4 стадия (цирроз) – от 13 до 16 баллов [73]. Гистологический вариант ГЦК определялся согласно международной гистологической классификации опухолей печени, желчных путей и поджелудочной железы, рекомендованной ВОЗ [41].

Иммуногистоморфометрические исследования применялись для количественной оценки экспрессии CD4, CD8, CD68, Ki67, α -SMA, Fas, FasL, bcl-2, NS3HCV. В части наблюдений выполнялось иммуногистохимическое исследование с целью качественного определения HBsAg в ткани печени. Измерения осуществлялись в 6 полях зрения при увеличении x400 по

каждому исследованному маркеру (по 3 разных поля центролобулярных отделов печеночных долек и 3 разных поля парабазальных отделов печеночных долек). Учитывался общий результат по иммуногистохимическому препарату (складывающийся как среднее арифметическое в 6 полях зрения). Кроме того, в наблюдениях гепатоцеллюлярной карциномы дополнительно производились количественные измерения экспрессии изучаемых антигенов в опухолевой ткани (в 3 разных полях). Для иммуногистоморфометрических исследований использовалась компьютерная система анализа видеоизображений «ВидеоТест Морфология 4.0» («ИСТА-ВидеоТест» Россия).

Экспрессия Ki-67 наблюдалась в ядрах гепатоцитов, синусоидных и опухолевых клеток. Оценка экспрессии Ki-67 в ткани печени осуществлялась путем вычисления индекса пролиферации с определением процентного соотношения Ki-67-позитивных гепатоцитов/синусоидных клеток к общему числу гепатоцитов/синусоидных клеток. Измерения производились в 6 полях зрения (по 3 поля из центролобулярных отделов и по 3 поля из парабазальных отделов разных печеночных долек) при увеличении $\times 400$. В наблюдениях гепатоцеллюлярной карциномы дополнительно проводились измерения еще в 3 полях зрения – в опухолевой ткани. Оценка экспрессии Ki-67 в опухолевой ткани осуществлялась путем вычисления индекса пролиферации с определением процентного соотношения Ki-67-позитивных клеток опухоли к общему числу опухолевых клеток. В качестве Ki-67-позитивных гепатоцитов, синусоидных или опухолевых клеток рассматривались клетки с интенсивной специфической прокрашенностью ядер. В ткани печени экспрессия Ki-67 в каждом из отделов печеночной дольки (центролобулярные или парабазальные отделы) учитывалась отдельно.

Экспрессия CD4 и CD8 в ткани печени наблюдалась на поверхности непаренхиматозных клеток (лимфоцитов) в виде тонкого специфически окрашенного ободка. Подсчет CD4- и CD8-позитивных клеток производился в 6 полях зрения (по 3 поля из центролобулярных отделов и по 3 поля из парабазальных отделов разных печеночных долек), а также в опухолевой ткани (в 3-х разных полях) при увеличении $\times 400$. Подсчитывалось абсолютное содержание позитивных клеток, а также процентное соотношение CD4-позитивных или CD8-позитивных ко всем внутридольковым лимфоцитам.

Экспрессия CD68 в ткани печени наблюдалась в цитоплазме тканевых макрофагов. Учет экспрессии CD68 осуществлялся посредством вычисления среднего процента CD68-позитивной площади в 3 полях зрения из центролобулярных отделов и 3 полях зрения из парабазальных отделов печеночных долек, в опухолевой ткани (в 3-х разных полях), а также посредством вычисления абсолютного среднего процентного содержания CD68-позитивных непаренхиматозных клеток внутри печеночных долек в 3 полях зрения из центролобулярных отделов и 3 полях зрения из парабазальных отделов, в опухолевой ткани (в 3-х разных полях).

Экспрессия α -SMA в ткани печени наблюдалась в активированных звездчатых клетках внутри печеночных долек, фибробластах и фиброцитах портальных трактов, фиброзных септ и стенках сосудов стромы. Количественный подсчет степени выраженности экспрессии α -SMA в ткани печени осуществлялся путем определения среднего процента α -SMA-позитивной площади в 6 полях зрения (по 3 поля из центролобулярных отделов и по 3 поля из парабазальных отделов разных печеночных долек с отдельным учетом результатов). Средний процент экспрессии α -SMA в паренхиме печени отражал степень активации звездчатых клеток.

Экспрессия bcl-2 выявлялась на поверхности лимфоцитов – как внутри печеночных долек, в портальных трактах, так и в строме гепатоцеллюлярной

карциномы, в цитоплазме эпителия желчевыводящих протоков, в отдельных наблюдениях – диффузно в цитоплазме гепатоцитов. Учет экспрессии bcl-2 осуществлялся путем вычисления среднего процентного соотношения bcl-2-позитивных лимфоцитов к общему числу лимфоцитов в 6 полях зрения (по 3 поля из центрлобулярных отделов и по 3 поля из парабазальных отделов разных печеночных долек) при увеличении $\times 400$. В наблюдениях ГЦК дополнительно проводились измерения еще в 3 полях зрения – в опухолевой ткани. Bcl-2 - позитивными признавались лимфоциты со специфической отчетливой окраской клетки в виде тонкого коричневого ободка на поверхности.

Fas и FasL экспрессировались на поверхности лимфоцитов, подсчет Fas-позитивных и FasL-позитивных лимфоцитов производился в 6 полях зрения (по три поля зрения в центрлобулярных и перипортальных отделах разных печеночных долек), а также в опухолевой ткани (в 3-х разных полях) при увеличении $\times 400$. Определялось среднее процентное соотношение Fas-позитивных и FasL-позитивных лимфоцитов ко всем расположенным внутри печеночных долек лимфоцитам. Fas/FasL-опосредованный механизм запуска апоптоза клеток является универсальным и используется для регулирования количества различных клеточных популяций [8]. Наряду с гепатоцитами, подверженными гибели путем апоптоза, запускаемого посредством цитотоксических лимфоцитов, гибель самих цитотоксических лимфоцитов из состава внутрипеченочных клеточных инфильтратов осуществляется аналогичным путем с использованием Fas/FasL-опосредованного механизма [8]. Нами был проведен расчет отношения FasL к Fas-рецептору (индекс Fas, IndF) и к bcl-2 (FasL/Fas/bcl-2), который на наш взгляд отражает интегральную величину указанных факторов с разнонаправленным действием [184]. Величина этих отношений была названа нами индексом потенциальной готовности к апоптозу лимфоцитов (IFbcl); высокое значение этого интегрального показателя предполагает наличие необходимых условий

для запуска процесса апоптоза и высокую вероятность его начала. Низкий показатель IF β cl характеризует низкую вероятность запуска процесса апоптоза.

NS3HCV экспрессировался в цитоплазме гепатоцитов, а в части наблюдений – в цитоплазме клеток билиарного эпителия. Вычислялось среднее процентное отношение гепатоцитов, экспрессирующих NS3HCV ко всем гепатоцитам.

В качестве контроля при проведении иммуногистохимических исследований использовались образцы ткани печени умерших от различных заболеваний (Таблица 2.8).

Таблица 2.8 – Группа контроля для проведения иммуногистохимических и гистоморфометрических исследований

№	№ протокола вскрытия	пол	возраст	Причина смерти
1	47774/219	м	60	Гнойный сфеноидит, гнойный менингит, мозговая кома
2	47655/201	м	59	Гипертоническая болезнь в сочетании с атеросклерозом, влажная гангрена стопы и голени
3	47853/232	м	75	Гипертоническая болезнь в сочетании с атеросклерозом, инфаркт кишечника
4	55775/47	м	72	Окологлоточный абсцесс, гнойный плеврит, гнойный медиастинит
5	56386/111	м	47	Язвенная болезнь желудка, кровотечение

Критерием отбора контрольной группы являлось отсутствие клинико-биохимических, серологических и морфологических признаков поражения печени.

Исследования, посвященные особенностям клинического течения, морфологической и иммуноморфологической характеристики естественного течения хронической HBV-инфекции проводились совместно с д.м.н. Шапиро И.Я. [76, 115, 184].

Статистическая обработка. Обработку и анализ статистических данных, полученных в результате исследования, проводили стандартными методами вариационной статистики в рамках программы Statistica for Windows, версия

5,5. В зависимости от характера распределения количественных показателей для проверки «нулевой» гипотезы использовали параметрические критерии парного сравнения по средним значениям (Т-критерий Стьюдента). Корреляционный анализ с использованием коэффициента ранговой корреляции проводили по Спирмену (r). При проверке статистических гипотез принимался критический уровень значимости (p), равный 0,05.

ГЛАВА 3 КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА, ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ И
ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЫ,
АССОЦИИРОВАННЫХ С HBV И HCV

3.1 Клинико-лабораторная характеристика хронических гепатитов,
ассоциированных с HBV и HCV

Для выявления клинических, эпидемиологических и лабораторных особенностей ХГВ и ХГС проведен сравнительный анализ в группах пациентов, страдающих ХГВ (n=57) и ХГС (n=110).

Средний возраст в изучаемых группах пациентов, страдающих ХГВ составил $21,6 \pm 7,6$ лет, ХГС – $25,5 \pm 9,2$ лет.

Большинство пациентов имели среднее образование (84,5% и 93% соответственно в группах больных ХГС и ХГВ), среди них лишь общее среднее образование получили 50% больных ХГС и 49,2% больных ХГВ, еще 34,5% и 43,8% больных ХГС и ХГВ соответственно имели среднее специальное образование (Таблица 3.1.1).

Таблица 3.1.1 – Социальный статус пациентов, страдающих ХГС и ХГВ

Сравниваемые параметры	ХГС (n=110)		ХГВ (n=57)	
	Абс.	%	Абс.	%
<u>Образование</u>				
Общее среднее	55	50,0	28	49,2
Среднее специальное	38	34,5	25	43,8
Высшее (в том числе незаконченное)	17	15,5 [#]	4	7,0
<u>Наличие работы</u>				
Нет работы	1	0,9 [#]	4	7,0
Временная	64	58,2	35	61,4
Постоянная	45	40,9	18	31,5
Наличие постоянного жилья	109	91,1	57	100,0

Примечание: индекс [#] указывает на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ (p<0,05)

Больные ХГС значительно чаще (15,5%), чем больные ХГВ (7%), p<0,05 имели высшее образование или учились в высших учебных заведениях, эти

пациенты принадлежали к более старшей возрастной группе (средний возраст $34,81 \pm 9,92$ года, больше половины - женщины).

Большинство пациентов были трудоустроены, однако лишь 40,9% больных ХГС и 31,5% больных ХГВ имели постоянную работу. Пациенты из группы ХГВ достоверно чаще не работали и не учились, чем пациенты их группы ХГС (7% и 0,9% соответственно, $p < 0,05$). 91,1% больных ХГС и все (100%) больные ХГВ имели постоянное жилье (Таблица 3.1.1).

Среди сопутствующих заболеваний, на основании анамнестических данных, в группе больных ХГС наиболее часто встречались (Таблица 3.1.2) дискинезия желчевыводящих путей и хронический гастрит (10,9% и 10,0% соответственно). Заболевания мочеполовой системы были представлены хроническим пиелонефритом (4,5%), хроническим гломерулонефритом (0,9%) и хроническим аднекситом (1,8%). В группе больных ХГВ сопутствующие заболевания встречались реже, были представлены хроническим гастритом, хроническим панкреатитом и дискинезией желчевыводящих путей (в 7%, 3,5% и 12,3% соответственно), что, вероятно было обусловлено более молодым возрастом пациентов в этой группе. Пациенты недооценивали свое пристрастие к пагубным привычкам. При первичном сборе анамнеза о злоупотреблении алкоголем заявили 2 (1,8%) больных ХГС и ни один из больных ХГВ, об употреблении наркотических препаратов сообщили 8 человек (7,3%) из группы больных ХГС и 4 человека (7,0%) из группы больных ХГВ (Таблица 3.1.2).

Таблица 3.1.2 – Важнейшие сопутствующие заболевания на основании данных анамнеза у больных ХГС и ХГВ

Нозологическая форма	ХГС			ХГВ	
	Всего, абс.(%) n=110	Мужчин, абс.(%) n=83	Женщин, абс.(%) n=27	Всего, абс.(%) n=57	Мужчин, абс.(%) n=57
Наркомания	8(7,3)	8(9,6)	0	4(7,0)	4(7,0)
Алкоголизм	2(1,8)	2(2,4)	0	0(0)	0(0)
Хронический гастрит	11(10,0)	6(7,2)	4(14,8)	4(7,0)	4(7,0)
Дискенезия желчевыводящих путей	12(10,9)	11(13,2)	1(3,7)	7(12,3)	7(12,3)
Желчно-каменная болезнь	7(6,4)	4(4,8)	3(11,1)	0	0
Хронический панкреатит	5(4,5)	4(4,8)	1(3,7)	2(3,5)	2(3,5)
Язвенная болезнь 12- перстной кишки	2(1,8)	2(2,4)	0	0	0
Хронический пиелонефрит	5(4,5)	3(3,6)	2(7,4)	0	0
Хронический гломерулонефрит	1(0,9)	1(1,2)	0	0	0
Хронический иридоциклит	1(0,9)	1(1,2)	0	0	0
Хронический тиреоидит	2(1,8)	1(1,2)	1(3,7)	0	0
Бронхиальная астма	1(0,9)	1(1,2)	0	0	0
Хронический гайморит	1(0,9)	1(1,2)	0	0	0
Вегето-сосудистая дистония	2(1,8)	2(2,4)	0	0	0
Гипертоническая болезнь	3(2,7)	0	3(11,1)	0	0
Хронический аднексит	2(1,8)	0	2(7,4)	0	0
Рассеянный склероз	1(0,9)	0	1(3,7)	0	0

При более тщательном сборе анамнеза после осмотра нарколога зависимость от алкоголя была установлена у 65 человек (59,1%) из группы больных ХГС и у 26 человек (45,6%) из группы больных ХГВ, $p < 0,05$. Пациенты из группы больных ХГВ значительно реже страдали парентеральной наркоманией, чем больные из группы больных ХГС (7% и 33,6% соответственно, $p < 0,05$).

В группе больных ХГС наиболее часто злоупотребляли алкоголем и наркотическими препаратами мужчины (60,2% и 42,2% соответственно), у женщин преобладал алкоголизм (55,5%), наркоманией страдали лишь 7,4% пациенток (Таблица 3.1.3).

Таблица 3.1.3 – Частота встречаемости наркомании и алкоголизма у больных ХГС и ХГВ, установленные наркологом

Нозологическая форма	ХГС			ХГВ	
	Всего, абс. (%) n=110	Мужчин, абс. (%) n=83	Женщин, абс. (%) n=27	Всего, абс. (%) n=57	Мужчин, абс. (%) n=57
Наркомания	37(33,6) ¹	35(42,2) ^{2 3}	2(7,4) ³	4(7,0) ¹	4(7,0) ²
Алкоголизм, в том числе – употребление суррогатов алкоголя	65(59,1)* 2(1,8)	50(60,2)** 2(2,4)	15(55,5) 0	26(45,6)* 0	26(45,6)** 0

Примечание: индексы ^{1 2 3} указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами ($p < 0,05$), * ** указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами ($p = 0,05$)

Среди немедицинских парентеральных манипуляций, возможно приведших к инфицированию HCV явились парентеральная наркомания (33,6%), нанесение татуировок (20,0%) и пирсинг (4,5%), Таблица 3.1.4.

Таблица 3.1.4 – Возможные пути инфицирования HCV и HBV у больных ХГС и ХГВ

Возможный путь инфицирования	ХГС (n=110)		ХГВ (n=57)	
	Абс.	%	Абс.	%
Парентеральная наркомания	37	33,6*	4	7,0*
Пирсинг	5	4,5**	8	14,0**
Татуировки	22	20,0	10	17,5
Половые контакты с больными ВГ	30	27,2*	4	7,0*
Донорство	2	1,8	0	0
Эндоскопические манипуляции	6	5,4	2	3,5
Оперативные вмешательства	36	32,7*	8	14,0*
Гемотрансфузии	13	11,8	0	0
Инвазивные стоматологические процедуры	37	33,6**	10	17,5**
Гинекологические процедуры	24	21,8	0	0

Примечание: индекс * указывает на статистически значимые различия между сравниваемыми группами ($p < 0,05$), ** указывает на статистически значимые различия между сравниваемыми группами ($p = 0,05$)

В группе больных ХГВ риск инфицирования HBV при несанкционированном парентеральном введении наркотических препаратов был значительно ниже (7% больных ХГВ парентерально употребляли наркотические препараты против 33,6% в группе больных ХГС, $p < 0,05$). Вместе с тем, частота использования пирсинга в группе больных ХГВ была выше (14% против 4,5% в группе больных ХГС). Значительно чаще (в 27,2%

в группе больных ХГС, в 7% в группе больных ХГВ, $p < 0,05$) пациенты, переносящие ХГС имели половые контакты с больными вирусными гепатитами.

Среди медицинских инвазивных манипуляций с риском инфицирования HCV и HBV наиболее часто встречались (Таблица 3.1.4) инвазивные стоматологические вмешательства (33,6% в группе больных ХГС, 17,5% в группе больных ХГВ, $p = 0,05$), оперативные вмешательства (32,7% у больных ХГС и 14% у больных ХГВ, $p < 0,05$) и инвазивные гинекологические процедуры (21,8% в группе больных ХГС). В группе больных ХГС определенную роль в инфицировании HCV, вероятно, могли иметь гемотрансфузии (11,8%), эндоскопические исследования (5,4%) и донорство (1,8%).

Точные сроки заболевания могли указать 19,1% больных ХГС и значительно чаще - 59,6% больных ХГВ ($p < 0,05$), первичная госпитализация которых в более ранний период осуществлялась по поводу острого вирусного гепатита (Таблица 3.1.5).

Таблица 3.1.5 – Этапы обращаемости пациентов ХГС и ХГВ за стационарной помощью

Этап обращаемости	ХГС (n=110)		ХГВ (n=57)	
	Абс.	%	Абс.	%
Первичная госпитализация с ОГ	21	19,1*	34	59,6*
Первичная госпитализация с ХГ	37	33,6*	6	10,5*
Настоящая (первая) госпитализация с ХГ	52	47,3*	17	29,9*
Всего госпитализированных с ХГ	89	80,9*	23	40,4*

Примечание: индекс * указывает на статистически значимые различия между сравниваемыми группами ХГС и ХГВ ($p < 0,05$)

В то же время, первичная госпитализация больных в более ранний период по поводу впервые выявленного хронического гепатита значительно чаще регистрировалась у больных ХГС (33,6% против 10,5% у больных ХГВ, $p < 0,05$), что характеризует более яркие клинические проявления острого гепатита В и подчеркивает субклинический характер течения острого гепатита С.

Таким образом, впервые по поводу ОГ были госпитализированы 19,1% больных ХГС и 59,6% больных ХГВ ($p < 0,05$), тогда как госпитализация 80,9% больных ХГС и 40,4% больных ХГВ, учитывая первую госпитализацию в более ранний период по данному заболеванию, осуществлялась по поводу уже ХГ ($p < 0,05$).

Все же все пациенты смогли ориентировочно оценить сроки настоящего заболевания (Таблица 3.1.6).

Таблица 3.1.6 – Предполагаемые сроки заболевания пациентов с ХГС и ХГВ

Сроки заболевания	ХГС (n=110)		ХГВ (n=57)	
	Абс.	%	Абс.	%
Менее 1 года (6 - 12 мес)	18	16,4	8	14,0
1-3 года (13-36 мес)	31	27,9	17	29,8
3-10 лет (37-120 мес)	52	46,8	20	35,1
Более 10 лет (более 120 мес)	8	7,2*	12	21,0*

Примечание: индекс * указывает на статистически значимые различия между сравниваемыми группами ($p < 0,05$)

Большинство пациентов (74,7% больных ХГС и 64,9% больных ХГВ) страдали вирусным гепатитом в течение времени от 1 до 10 лет. Вместе с тем, инфицирование больных ХГВ, учитывая средний возраст пациентов в этой группе ($21,67 \pm 7,69$ лет) и длительный анамнез заболевания (более 10 лет), достаточно часто происходило в подростковом возрасте. Больные ХГС значительно реже имели более чем 10-летний анамнез заболевания (более 10 лет страдают вирусным гепатитом 7,2% больных ХГС против 21% больных ХГВ, $p < 0,05$).

Средние сроки течения хронического гепатита с отсутствием фиброза в печени (F0) были значительно более короткими у больных ХГС ($55,62 \pm 37,67$ месяцев), чем у больных ХГВ ($92,38 \pm 67,67$ месяца) при $p = 0,02$, что свидетельствует о возможности более длительного “мягкого” периода течения заболевания у больных ХГВ (Таблица 3.1.7).

Таблица 3.1.7 – Средняя длительность заболевания у больных ХГС и ХГВ с различной степенью выраженности фиброза печени

Степень выраженности фиброза по Knodell	ХГС (n=110)		ХГВ (n=57)	
	Абс.	Ср. длительность болезни, мес.	Абс.	Ср. длительность болезни, мес.
Отсутствие фиброза (F0)	23	55,62±37,67 [#]	25	92,38±67,67
Расширение портальных трактов за счет фиброза (F1)	80	55,37±45,10	22	42,35±57,11*
Порто-портальный или порто-центральный фиброз (F3)	6	99,33±66,66	9	102,44±58,54*
Цирроз (F4)	1	8,0	1	24,0

Примечание: [#] – статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ (p<0,05), * - статистически значимые различия между сравниваемыми группами (p<0,05)

У пациентов с начальными признаками фиброза (F1), Рисунок 1, длительность течения гепатита, не различаясь в группах больных ХГС и ХГВ, была такой же, как и у пациентов с ХГС без признаков значимого фиброза (F0), что косвенно указывает на различные варианты течения (прогрессирования) ХГС: с быстрым прогрессированием фиброза печени и без него.

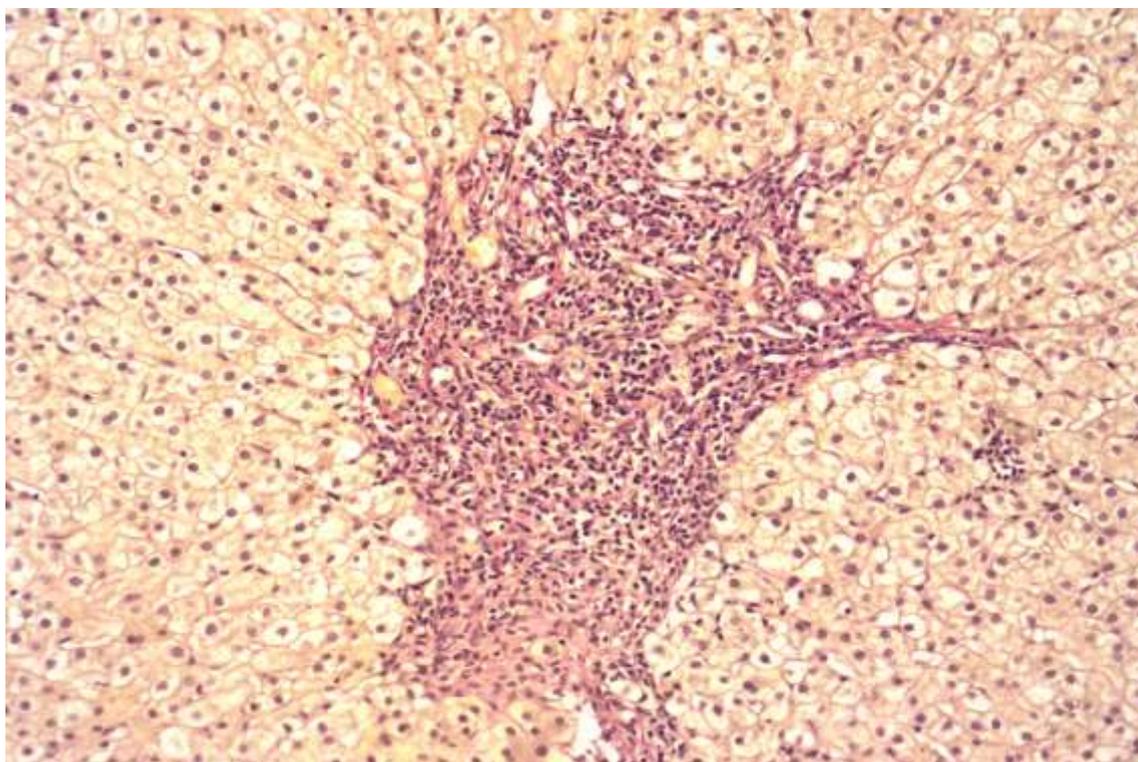


Рисунок 1 – Расширение стромы портального тракта за счет фиброза, перипортальный сегментарный фиброз (F1) в печени у больного ХГС. Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону. Ув.х200

Более длительное течение хронического гепатита как у больных ХГС, так и у больных ХГВ закономерно приводило к утяжелению степени выраженности фиброза печени (F3), характеризовавшегося появлением в паренхиме печени завершенных или незавершенных неваккуляризованных порто-портальных или порто-центральных септ, однако, не приводящих к значительному изменению архитектоники печени (Рисунок 2).

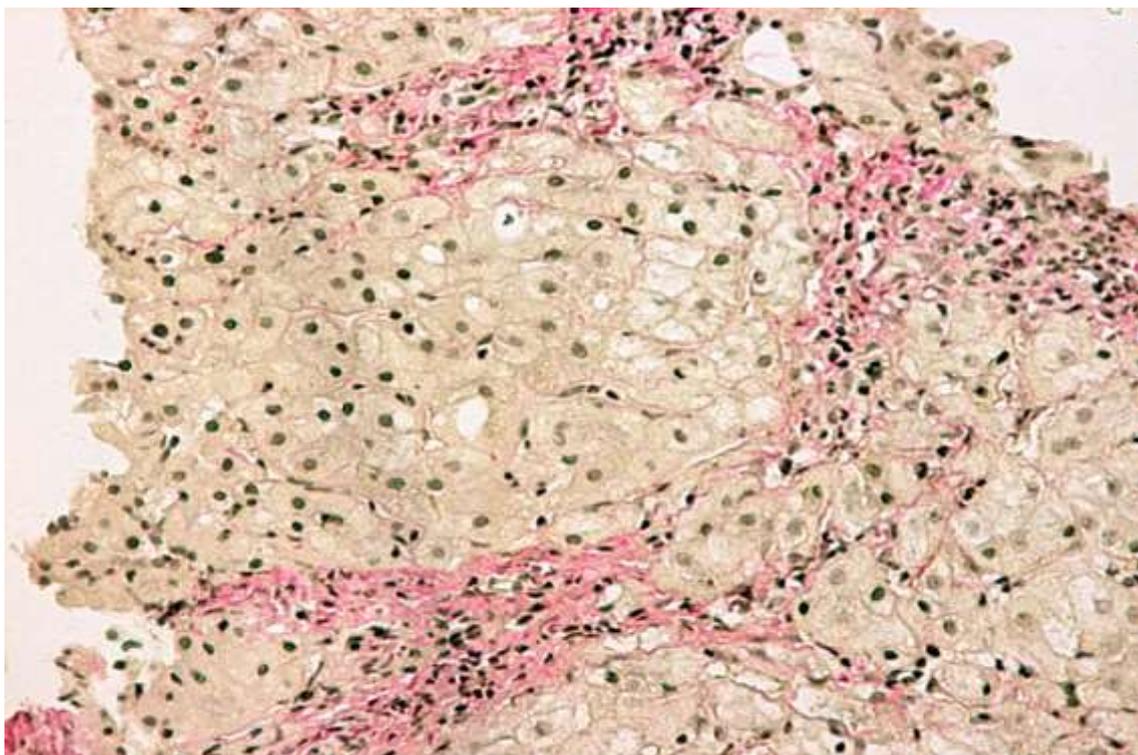


Рисунок 2 – Формирование порто-портальных фиброзных септ без признаков их васкуляризации у больного ХГВ с тяжелым фиброзом печени (F3 по Knodell). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону. Ув. x200

Наращение явлений фиброза в печени сопровождалось, а исходя из патогенетических механизмов течения ХВГ, было обусловлено более высокой выраженностью гистологической активности гепатита (Таблица 3.1.8). У пациентов, переносящих ХГС и ХГВ без признаков значимого фиброза печени (F0), гистологическая активность гепатита была минимальной или слабой, и в среднем составляла у больных ХГС $3,69 \pm 2,26$ балла и $3,72 \pm 1,92$ балла у больных ХГВ ($p > 0,05$).

Таблица 3.1.8 – Средний ИГА (по Knodell) хронического гепатита у больных ХГС и ХГВ с разной степенью выраженности фиброза

Степень выраженности фиброза по Knodell	ХГС (n=110)		ХГВ (n=57)	
	Абс.	Ср. ИГА, баллы	Абс.	Ср. ИГА, баллы
Отсутствие фиброза (F0)	23	3,69±2,26	25	3,72±1,92
Расширение портальных трактов за счет фиброза (F1)	80	9,47±2,44 #	22	6,86±2,39
Порто-портальный или порто-центральный фиброз (F3)	6	12,83±1,83	9	12,11±2,52
Цирроз (F4)	1	13,0	1	14,0

Примечание: # – статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ (p<0,05)

При нарастании степени выраженности фиброза до стадии F1 наблюдалось нарастание гистологической активности гепатита, причем у пациентов с ХГС с более высокими показателями ИГА (средний ИГА у больных ХГС составил 9,47±2,44 балла, у больных ХГВ - 6,86±2,39 балла, p<0,05). Больные ХГС и ХГВ с тяжелым фиброзом (F3) переносили гепатит с довольно высокой гистологической активностью (средний ИГА у больных ХГС составил 12,83±1,83 балла, у больных ХГВ 12,11±2,52 балла, p>0,05), Рисунок 3.

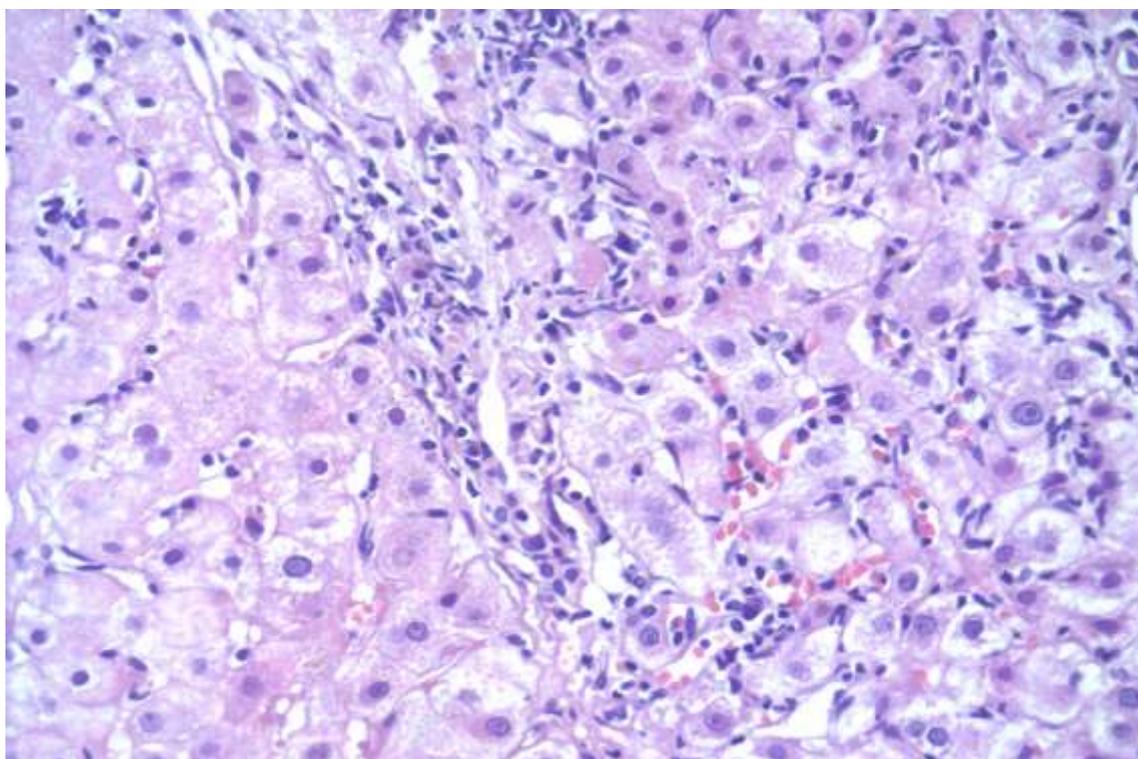


Рисунок 3 – Мостовидный «некроз» у больного ХГВ с высокой гистологической активностью (ИГА по Knodell = 13 баллов). Окр. гематоксилином и эозином. Ув. x400

Таким образом, результаты наших исследований свидетельствуют о возможности более длительного, чем при ХГС, течения ХГВ ($p=0,02$) без признаков начала процесса фиброгенеза в печени при низкой гистологической активности гепатита, тогда как даже низкая гистологическая активность ХГС приводит к более быстрому наступлению ранних стадий фиброза печени. Вместе с тем, дебют процесса фиброгенеза при нарастании гистологической активности хронического гепатита В наступает несколько раньше, чем у больных ХГС.

Наиболее часто при поступлении больные жаловались на слабость, дискомфорт в правом подреберье, снижение аппетита, тошноту. Эти симптомы были более выражены в группе больных ХГС, чем в группе больных ХГВ (Таблица 3.1.9).

Таблица 3.1.9 – Выявленные жалобы пациентов ХГС и ХГВ на момент госпитализации

Жалобы пациентов	ХГС (n=110)		ХГВ (n=57)	
	Абс.	%	Абс.	%
Слабость	71	64,5**	29	50,8**
Дискомфорт в подреберьи	70	63,6	35	61,4
Снижение аппетита	40	36,4**	11	19,3**
Тошнота	37	33,6	15	26,3
Артралгии	20	18,2	6	10,5
Лихорадка	16	14,5**	2	3,5**
Желтуха	3	2,7	1	1,7
Кожный зуд	3	2,7	0	0
Отеки нижних конечностей	2	1,8	0	0
Кровоточивость десен	1	0,9	0	0

Примечание: индекс ** указывает на различия между сравниваемыми группами ($p=0,05$)

Так, слабость отмечали 64,5% пациентов из группы больных ХГС и 50,8% из группы больных ХГВ ($p=0,05$); снижение аппетита беспокоило 36,4% больных ХГС и 19,3% больных ХГВ ($p=0,05$). 14,5% больных ХГС указывали на периодически возникающую гипертермию до субфебрильных цифр, чаще в вечернее время, тогда как в группе больных ХГВ этот симптом наблюдался значительно реже – в 3,5% наблюдений ($p=0,05$). Больных ХГС несколько чаще ($p>0,05$), беспокоили артралгии в крупных суставах (18,2%), чаще на фоне субфебрильной лихорадки. Кожный зуд и периодически

возникающую неяркую общую желтуху отмечали лишь 3 пациента (2,7%) с ХГС и 1 пациент с ХГВ (1,7%). Проявления геморрагического синдрома не явились характерной жалобой в этих группах пациентов.

При первичном осмотре больных ХГС и ХГВ преобладали пациенты нормостенической конституции, удовлетворительного питания (Таблица 3.1.10). Для больных ХГВ была более характерна сниженная масса тела (19,3% пациентов против 10% пациентов из группы больных ХГС, $p=0,05$).

Таблица 3.1.10 – Оценка состояния питания пациентов с ХГС и ХГВ

Состояние питания	ХГС (n=110)		ХГВ (n=57)	
	Абс.	%	Абс.	%
Удовлетворительное	88	80,0	44	77,2
Повышенное	10	9,1	2	3,5
Сниженное	11	10,0**	11	19,3**

Примечание: индекс ** указывает на различия между сравниваемыми группами ($p=0,05$)

Наиболее часто встречающимся в группах больных ХГС и ХГВ симптомом (Таблица 3.1.11) явилась гепатомегалия (93,6% и 85,9% соответственно), реже сопровождавшаяся спленомегалией (12,7% и 7% соответственно). Пальмарная эритема чаще встречалась у больных ХГС, чем у больных ХГВ (73,6% и 50,8% соответственно, $p<0,05$). Признаки портальной гипертензии в виде расширения подкожных вен передней брюшной стенки отмечены в 5 наблюдениях (4,5%) больных ХГС.

Таблица 3.1.11 – Важнейшие клинические симптомы и синдромы, выявленные у больных ХГС и ХГВ при осмотре

Симптом	ХГС (n=110)		ХГВ (n=57)	
	Абс.	%	Абс.	%
Желтуха	7	6,4	4	7,0
Пальмарная эритема	81	73,6*	29	50,8*
Телеангиоэктазии	52	47,3	25	43,8
Гепатомегалия	103	93,6	49	85,9
Спленомегалия	14	12,7	4	7,0
Печеночная энцефалопатия	1	0,9	2	3,5
Расширение подкожных вен передней брюшной стенки	5	4,5	0	0
Асцит	0	0	0	0
Проявления геморрагического синдрома	3	2,7	0	0

Примечание: индекс * указывает на статистически значимые различия между сравниваемыми группами ($p<0,05$)

В целом, в группе пациентов с ХГС и ХГВ показатели гемограммы находились в границах физиологической нормы и не имели различий анализируемых показателей в изучаемых группах (Таблица 3.1.12). В отдельных наблюдениях у больных ХГС отмечалась анемия слабой степени, максимально с показателем содержания гемоглобина 88 г/л при содержании эритроцитов 2,7 млн. в мкл. в одном наблюдении.

Таблица 3.1.12 – Показатели гемограммы у больных ХГС и ХГВ

Показатель	ХГС (n=110)	ХГВ (n=57)
	ср. значение (M±m)	
Гемоглобин, г/л	148,67±12,7 (n=83)	145,14±11,98
Эритроциты, млн	5,02±4,44 (n=83)	4,41±0,34
Цветовой показатель	1,01±0,02	0,98±0,01
Тромбоциты, тыс.	253,0±45,91	248,08±27,11
Лейкоциты, тыс.	6,46±2,0	6,3±1,5
Палочкоядерные,%	7,65±3,72	7,75±3,86
Сегментоядерные,%	52,91±8,34	52,42±9,46
Эозинофильные,%	1,63±1,4	2,92±2,2
Лимфоциты,%	31,5±8,65	30,36±9,91
Моноциты,%	5,92±2,21	5,82±2,52
СОЭ, мм/час	6,31±5,3	3,85±2,06

Во всех наблюдениях показатель содержания тромбоцитов в периферической крови находился в пределах физиологической нормы и в среднем составил 253,0±45,9 тыс. в мкл. В 7 наблюдениях (6,3%) ХГС и 3 наблюдениях (5,2%) ХГВ был отмечен умеренный лейкоцитоз, максимально до 10 тыс. в мкл. И у больных ХГС и у больных ХГВ отмечается незначительная тенденция к относительному лимфоцитозу, в среднем в группе больных ХГС составляющему 31,5±8,6%, у больных ХГВ - 30,36±9,91% (p>0,05). Максимальный показатель СОЭ отмечен в 1 наблюдении ХГС (28 мм в час), в среднем этот показатель у больных ХГС и ХГВ составил 6,3±5,3 мм час и 3,85±2,06 мм в час соответственно (p>0,05).

Результаты биохимического исследования крови пациентов с ХГС и ХГВ, представлены в Таблице 3.1.13. Содержание общего билирубина в крови у пациентов с ХГС в среднем составило 20,7±14,2 мкмоль/л, гипербилирубинемия выявлена у 35 пациентов (31,8%).

Таблица 3.1.13 – Некоторые биохимические показатели у больных ХГС и ХГВ

Показатель	ХГС (n=110)	ХГВ (n=57)
	ср. значение (M±m)	
Общий билирубин, мкмоль/л	20,74±14,21	20,42±7,25
АлАТ, е/л	127,93±114,36*	38,07±32,62*
АсАТ, е/л	75,94±85,66	35,15±20,37
ГГТП, е/л	111,12±167,5	28,25±9,28
ЩФ, е/л	83,01±42,64	120,75±32,71
Мочевина, ммоль/л	4,56±1,81	5,06±0,85
Креатинин, ммоль/л	0,075±0,009(n=83)	0,08±0,01
Тимоловая проба, у.ед	3,87±2,11	2,75±2,08
Протромбиновый индекс, %	91,12±11,95	89,09±9,88

Примечание: индекс * указывает на статистически значимые различия между сравниваемыми группами ($p < 0,05$)

Максимальный уровень гипербилирубинемии в группе больных ХГС составил 131 мкмоль/л (в 1 наблюдении). В группе больных ХГВ средний уровень содержания общего билирубина в сыворотке крови не отличался от такового у больных ХГС (20,42±7,25 мкмоль/л и 20,74±14,21 мкмоль/л соответственно). У 20 больных ХГВ (35%) отмечено превышение содержания общего билирубина в сыворотке крови. Таким образом, гипербилирубинемия наблюдалась с равной частотой как у больных ХГС, так и у больных ХГВ (31,8% и 35% соответственно, $p > 0,05$), что определило невысокий процент больных с ее максимальными проявлениями в виде общей желтухи (6,4% и 7% соответственно). Гиперферментемия (по активности АлАт в сыворотке крови), отражающая выраженность цитолитического синдрома, значительно чаще выявлялась у пациентов с ХГС - у 91 больного (82,7%), чем у больных ХГВ (18 больных, 31,5%) ($p = 0,01$). Содержание мочевины и креатинина в сыворотке крови, характеризующие функциональное состояние почек в изучаемых группах пациентов находились в пределах физиологической нормы.

Белковосинтетическая функция печени, отраженная в протеинограмме (Таблица 3.1.14) в виде содержания общего белка в сыворотке крови, в исследованных группах пациентов оказалась сохранной. Процентное содержание белковых фракций в сыворотке крови за исключением

относительного содержания γ -глобулина (средний показатель гипер- γ -глобулинемии $18,2\pm 3,7\%$ в группе больных ХГС и $16,0\pm 1,33\%$ в группе больных ХГВ), соответствовало физиологической норме.

Таблица 3.1.14 – Показатели протеинограммы у пациентов с ХГС и ХГВ

Показатель	ХГС (n=110)	ХГВ (n=57)
	Ср. значение (M \pm m)	
Общий белок, г/л	75,0 \pm 6,52	75,5 \pm 5,69
Альбумины, %	60,55 \pm 4,61	62,78 \pm 4,67
Альфа1 глобулины, %	2,74 \pm 0,77	2,57 \pm 0,59
Альфа2 глобулины, %	7,83 \pm 1,51	8,26 \pm 1,25
Бета глобулины, %	10,5 \pm 1,46	10,4 \pm 1,32
Гамма глобулины, %	18,22 \pm 3,73	16,0 \pm 1,33

Во время госпитализации всем пациентам было выполнено ультразвуковое исследование органов брюшной полости (Таблица 3.1.15), у большинства пациентов констатирована гепатомегалия (86,4% у больных ХГС и 82,4% у больных ХГВ) и, чаще в группе больных ХГС, увеличение эхогенности печени (55,4%). Ослабление дистального звука выявлено у 4,5% и 3,4% пациентов с ХГС и ХГВ соответственно, нарушение архитектоники печени только у 6,4% больных ХГС. Признаков выраженной портальной гипертензии выявлено не было, в среднем диаметр воротной вены у больных ХГС составил $10,9\pm 1,1$ мм, селезеночной вены - $6,4\pm 0,9$ мм.

Таблица 3.1.15 – Результаты УЗИ печени у пациентов ХГС и ХГВ

Показатель	ХГС (n=110)		ХГВ (n=57)	
	Абс.	%	Абс.	%
Гепатомегалия, абс. (%)	95	86,4	47	82,4
Увеличение плотности, абс. (%)	61	55,4	17	29,8
Ослабление дистального звука, абс. (%)	5	4,5	2	3,4
Нарушение ангиоархитектоники, мм	7	6,4	0	0
	Ср. значение (M \pm m)			
Диаметр воротной вены, мм	10,9 \pm 1,12		10,91 \pm 0,87	
Диаметр селезеночной вены, мм	6,42 \pm 0,94		6,31 \pm 0,47	

Диаметр печеночной и селезеночной вен у больных ХГВ также находился в пределах физиологической нормы и не отличался от такового у больных ХГС.

Во всех 110 наблюдениях у пациентов ХГС были выявлены антитела к вирусу гепатита С, что обусловлено критериями отбора пациентов в

исследуемую группу. У 62 пациентов произведено определение РНК вируса гепатита С в сыворотке крови, у большинства больных (88,7%) результат исследования был позитивным (Таблица 3.1.16).

Таблица 3.1.16 – Этиологическая верификация ХГС

Показатель	n	Положительный результат, абс.(%)	Отрицательный результат, абс.(%)
HCVAb	110	110(100)	0
PCRHCV	62	55(88,7)	7(11,3)

Этиологическая верификация ХГВ была более сложной, лишь комплексное вирусологическое (серологическое) исследование позволило верифицировать инфекционный процесс (Таблица 3.1.17).

Таблица 3.1.17 – Этиологическая верификация ХГВ и результаты определения фазы инфекционного процесса

Показатель	n	Положительный результат, абс.(%)	Отрицательный результат, абс.(%)
HBsAg	57	18(31,5)	39(68,5)
HBcAb	57	42(73,6)	15(26,4)
HBeAb	57	30(52,6)	27(47,4)

Таким образом, анализ данных анамнеза, клинического наблюдения, результатов клинико-лабораторных исследований показал общность эпидемиологии и клинического течения хронических гепатитов, вызываемых различными гепатотропными вирусами гепатита С и В. Вместе с тем, выявлены некоторые социальные эпидемиологические и клинико-лабораторные особенности ХГС, среди прочего, объясняющие его высокую распространенность. Несмотря на более высокий образовательный уровень больных ХГС ($p < 0,05$), имеющих или получающих высшее образование, по сравнению с больными ХГВ, которые чаще нигде не работают и не учатся ($p < 0,05$), больные ХГС наиболее часто страдают от алкогольной зависимости ($p < 0,05$) и парентеральной наркомании ($p = 0,05$). Некоторые эпидемиологические аспекты HCV-инфекции могли обусловить более высокую распространенность ХГС, в частности, больные ХГС чаще больных

ХГВ парентерально употребляли наркотические препараты ($p < 0,05$), а также имели половые отношения с больными ВГ ($p < 0,05$). А учитывая ориентировочные сроки начала заболевания (более 10 лет), на которые чаще, чем больные ХГВ ($p < 0,05$) указывали пациенты из группы больных ХГС и средний возраст больных в этой группе ($25,5 \pm 9,2$ года), инфицирование HCV чаще происходило в подростковом возрасте. Некоторые клинические особенности ХГС, в отличие от ХГВ, а именно более ранняя клиническая манифестация HBV-инфекции, когда больные с HBV-инфекцией значительно чаще впервые госпитализировались по поводу ОГ ($p < 0,05$) и более стертая клиническая картина манифестации HCV-инфекции, когда больные впервые были госпитализированы лишь по поводу развития ХГС, также может способствовать бесконтрольному распространению HCV-инфекции, учитывая более частые беспорядочные половые связи и парентеральную наркоманию у этого контингента. Среди клинических симптомов, большей частью схожих у больных ХГС и ХГВ, отмечена наиболее частая выявляемость у больных ХГС слабости ($p = 0,05$), снижения аппетита ($p < 0,05$), лихорадки ($p < 0,05$), а также более частое обнаружение пальмарной эритемы ($p < 0,05$). И у больных ХГС, и у больных ХГВ обращало на себя внимание преобладание безжелтушных форм ХГ ($p > 0,05$), однако, при анализе данных клиничко-биохимических исследований отмечена более часто встречающаяся у больных ХГС гиперферментемия (по уровню активности в сыворотке крови АлАт) ($p = 0,01$). Результаты наших исследований свидетельствуют о возможности более длительного, чем при ХГС течения ХГВ ($p = 0,02$) без признаков начала процесса фиброгенеза в печени при низкой гистологической активности гепатита, тогда как даже низкая гистологическая активность ХГС приводит к более быстрому наступлению ранних стадий фиброза печени. Вместе с тем, дебют процесса фиброгенеза при нарастании гистологической активности хронического гепатита В наступает несколько раньше, чем у больных ХГС.

3.2 Клинико-лабораторная характеристика циррозов печени, ассоциированных с HBV и HCV

Для выявления эпидемиологических и клинико-лабораторных особенностей ХГС и ХГВ в стадии цирроза печени, ассоциированных с HCV и HBV (ЦПС и ЦПВ), методом слепой выборки были отобраны две группы, состоящие из 26 больных ЦПС и 25 больных ЦПВ. Все больные находились на стационарном лечении в инфекционном стационаре, умерли там и подверглись вскрытию в патологоанатомическом отделении СПбКИБ им. С.П.Боткина. Данные о половом и возрастном составе групп умерших от ЦПС и ЦПВ представлены в Таблице 3.2.18. Средний возраст в группе умерших от ЦПС составил $46,04 \pm 13,59$ лет, женщины умирали в более молодом возрасте (средний возраст $42,8 \pm 12,23$ года). Один мужчина умер в возрасте 21 года, наибольший возраст пациента в данной группе составил 72 года. Пациенты из группы ЦПВ, все мужчины, умирали в более преклонном возрасте (средний возраст $67,8 \pm 5,3$ лет).

Таблица 3.2.18 – Половой и возрастной состав групп больных, умерших от ЦПС и ЦПВ

Пол	ЦПС, n=26			ЦПВ, n=25		
	Абс.	%	Средний возраст, лет	Абс.	%	Средний возраст, лет
Мужчин	16	61,5	$48,06 \pm 14,38^{\#}$	25	100	$67,8 \pm 5,3$
Женщин	10	38,5	$42,8 \pm 12,23$	0	0	-
Всего	26	100	$46,04 \pm 13,59^{\#}$	25	100	$67,8 \pm 5,3$

Примечание: индекс [#] указывает на статистически значимые различия с соответствующей группой ЦПВ ($p < 0,05$)

Все 26 пациентов из группы ЦПС были доставлены в инфекционный стационар с диагнозом «вирусный гепатит», Таблица 3.2.19. Из них 15 человек (57,6%) с хронической формой вирусного гепатита с жалобами на слабость (100%), снижение аппетита (100%), тошноту (100%), повторные рвоты (23,0%), желтуху (76,9%), увеличение в объеме живота (53,8%) и снижение диуреза (69,2%).

Таблица 3.2.19 – Наиболее частые жалобы больных ЦПС и ЦПВ при поступлении в стационар

Симптом	ЦПС (n=26)		ЦПВ (n=25)	
	Абс.	%	Абс.	%
Желтуха	20	76,9	20	80,0
Общая слабость	26	100,0	25	100,0
Снижение аппетита	26	100,0	25	100,0
Тошнота	26	100,0	25	100,0
Повторная рвота	6	23,0	9	36,0
Увеличение в объеме живота	14	53,8 [#]	25	100,0
Снижение диуреза	18	69,2	25	100,0
Носовые кровотечения	16	61,5	20	80,0
Кожный зуд	14	53,8	11	44,0
Темная моча	20	76,9	20	80,0

Примечание: индекс [#] указывает на статистически значимые различия с соответствующей группой ЦПВ ($p < 0,05$)

Больные ЦПВ поступали с диагнозом «хронический вирусный гепатит» (100%) с теми же жалобами, однако чаще указывали на нарастающее увеличение живота ($p = 0,01$), что позволяло уже на догоспитальном этапе с учетом комплекса клинических симптомов и наличия очевидных признаков портальной гипертензии диагностировать цирротическую стадию хронического гепатита.

При осмотре больных помимо указанных ими симптомов, у 10 (38,6%) больных ЦПС и всех 25 (100,0%) больных ЦПВ были выявлены телеангиоэктазии ($p = 0,01$), а также гепатомегалия (у 100,0% больных ЦПС и 80,0% ЦПВ, $p > 0,05$), спленомегалия (у 100,0% больных ЦПС и 100,0% больных ЦПВ), признаки геморрагического синдрома (у 79,6% больных ЦПС и у 100,0% больных ЦПВ, $p > 0,05$) и отечно-асцитического синдрома разной степени выраженности (у 80,7% больных ЦПС и 100,0% больных ЦПВ, $p > 0,05$).

Длительность настоящего заболевания (Таблица 3.2.20) указали 17 пациентов (65,3%) с ЦПС и 8 больных (32,0%) ЦПВ ($p > 0,05$). 4 (15,4%) пациента с ЦПС и 5 (20,0%) больных ЦПВ ($p > 0,05$) указывали на наличие хронического вирусного гепатита, диагностированного у них более 10 лет до настоящей госпитализации. 13 пациентов (50,0%) с ЦПС сообщили, что страдают ХГС менее 10 лет, причем 8 из них (30,7%) неоднократно

госпитализировались в инфекционный стационар по поводу обострения ХГ. 3 больным (12,0%) ЦПВ в течение последних 10 лет до настоящей госпитализации диагностирован ХГВ ($p>0,05$).

Таблица 3.2.20 – Предполагаемая длительность заболевания у больных ЦПС и ЦПВ

Предполагаемая длительность заболевания	ЦПС (n=26)		ЦПВ (n=25)	
	Абс.	%	Абс.	%
Не известно	9	34,6	17	68,0
Менее 10 лет	13	50,0	3	12,0
Более 10 лет	4	15,4	5	20

Сведения о характере и путях инфицирования HCV или HBV были недостоверны, ни один из пациентов не указывал на перенесенный в прошлом острый вирусный гепатит С или В. Большинство пациентов из обеих групп переносили различные инвазивные манипуляции, все больные в течение жизни посещали стоматолога. Один больной ЦПС (мужчина 21 года) парентерально вводил наркотические препараты.

Длительность последнего ухудшения состояния оценивалась пациентами с ЦПС и ЦПВ (Таблица 3.2.21) от 1 суток до нескольких месяцев до госпитализации.

Таблица 3.2.21 – Длительность последнего ухудшения состояния перед последней госпитализацией у больных ЦПС и ЦПВ

Длительность последнего ухудшения	ЦПС (n=26)		ЦПВ (n=25)	
	Абс.	%	Абс.	%
Дни	6	23,0	7	28,0
Месяцы	14	53,8	12	48,0
Годы	6	23,0	6	24,0

Некоторые больные, несмотря на нарастающий в последние месяцы перед настоящей госпитализацией, закончившейся смертью, асцит, считали себя здоровыми.

Клинический пример 1.

Больной М., 65 лет, был госпитализирован в инфекционный стационар санитарным транспортом с диагнозом направления «Вирусный гепатит, цирроз печени». До настоящей госпитализации пациент не обращался за медицинской помощью. Считает себя больным в течение 1 недели. При детальном расспросе было выяснено, что в прошлом пациент переносил повторные хирургические вмешательства и получал препараты крови по поводу травмы. По поводу вирусного гепатита не обследовался, иктеричности кожных

покровов и склер не отмечал. В последние годы пациент отмечал увеличение живота, последний год заставляющее его спать сидя и затрудняющее его передвижения. Поводом для обращения за медицинской помощью явилось «подтекание» жидкости из крупного выпячивания передней брюшной стенки в течение недели перед госпитализацией. При осмотре кожные покровы имели буроватый оттенок, склеры были субиктеричны, наблюдался напряженный асцит с резко выраженным расширением подкожных вен передней брюшной стенки (Рисунок 4). Крупная вентральная грыжа имела дефекты кожи, через которые каплями истекала асцитическая жидкость.

Дальнейшим клиническим наблюдением и на основании данных лабораторных исследований был установлен диагноз «Хронический вирусный гепатит В, цирротическая стадия, декомпенсация (прогностический класс С по А. Child, R.H. Pugh)», содержание общего билирубина в сыворотке крови было в пределах нормальных показателей, активность АлАт – 1,5 N.



Рисунок 4 – Выраженный асцит у 65-летнего больного ЦПВ, оценивающего сроки своего заболевания в 1 неделю

Клинический пример иллюстрирует наличие длительного периода малосимптомного течения ЦП, манифестировавшего проявлениями

портальной гипертензии, а также сниженную критику пациентов к тяжести своего состояния.

Средняя длительность пребывания пациентов с ЦПС в стационаре составила $14,35 \pm 8,93$ койко-дней, 2 (7,6%) пациента умерли, проведя в стационаре менее 1 суток, а кратковременность пребывания (менее 3 суток) больных ЦПС в стационаре составила 30,7% (7 больных). Максимальный срок пребывания больных ЦПС в стационаре составил 32 койко-дня. Несколько больший срок провели в стационаре больные ЦПВ (средний койко-день у больных ЦПВ составил $25,8 \pm 9,5$ против $14,35 \pm 8,93$ койко-дней у больных ЦПС, $p < 0,05$), при кратковременном пребывании в стационаре умерли 8 больных (32%), при досуточном пребывании – 4 больных ЦПВ (16%), максимальный койко-день составил 37.

Среди важнейших сопутствующих заболеваний, на фоне которых протекали ЦПС и ЦПВ, приведшие к смерти (Таблица 3.2.22) отмечался хронический алкоголизм (57,6% и 52,0% соответственно, $p > 0,05$).

Таблица 3.2.22 – Важнейшие сопутствующие заболевания у умерших от ЦПС и ЦПВ

Нозологическая единица	ЦПС (n=26)		ЦПВ (n=25)	
	Абс.	%	Абс.	%
Наркомания	1	3,8	0	0,0
Зависимость от алкоголя	15	57,6	13	52,0
Желчнокаменная болезнь	4	15,3	4	16,0
Хронический панкреатит	7	26,9	7	28,0
Хронический пиелонефрит	10	38,4	8	32,0
Гипертоническая болезнь	8	30,7	12	48,0
Мочекаменная болезнь	2	7,6	1	4,0
Аденоматозная гиперплазия предстательной железы	1	3,8	2	8,0
Педикулез	2	7,6	1	4,0

Среди соматической патологии у больных ЦПС и ЦПВ наиболее часто встречался хронический пиелонефрит (у 38,4% больных ЦПС и у 32,0% больных ЦПВ, $p > 0,05$), гипертоническая болезнь (у 30,7% больных ЦПС и у 48,0% больных в более старшей возрастной группе ЦПВ, $p > 0,05$), а также хронический панкреатит (у 26,9% больных ЦПС и у 28% больных ЦПВ,

$p > 0,05$). Героиновая наркомания сопутствовала ЦПС в 1 наблюдении у 21 летнего мужчины.

Кроме того, в качестве сопутствующей патологии у больных ЦПС и ЦПВ с равной частотой ($p > 0,05$) выявлены желчнокаменная болезнь (15,6% и 16,0% соответственно), мочекаменная болезнь (7,6% и 4,0% соответственно) и аденоматозная гиперплазия предстательной железы (3,8% и 8,0% соответственно). Выявленный при поступлении в стационар педикулез у 2 женщин, больных ЦПС и у 1 мужчины, страдающего ЦПВ, наряду со злоупотреблением алкоголем подчеркивает низкий социальный статус этих пациентов.

Проведенное клинико-лабораторное обследование пациентов показало значительные изменения ряда лабораторных показателей (Таблица 3.2.23 и Таблица 3.2.24).

Таблица 3.2.23 – Показатели гемограммы у больных ЦПС и ЦПВ

Показатель	ЦПС (n=26)	ЦПВ (n=25)
	М ± m	М ± m
Эритроциты ($\times 10^{12}/л$)	3,23±0,25	3,6±0,2
Гемоглобин (г/л)	104,08±24,73	116,0±7,3
Лейкоциты ($\times 10^9/л$)	7,09±1,89	8,36±1,5
Лимфоциты (%)	9,28 ±3,58 [#]	18,2±2,7
Сегментоядерные (%)	62,0±4,2	65,2±3,1
Палочкоядерные (%)	9,46±2,58	9,0±1,3
Моноциты (%)	5,4±0,67	6,0±1,0
СОЭ (мм/ч)	39,08±20,91	32,8±9,5

Примечание: индекс, [#] указывает на статистически значимые различия с группой ЦПВ, $p < 0,05$

В клиническом анализе крови была отмечена выраженная анемия, не отличающаяся в группах больных ЦПС и ЦПВ, со снижением среднего содержания эритроцитов в крови до уровня $3,23 \pm 0,25 \times 10^{12}/л$ и $3,6 \pm 0,2 \times 10^{12}/л$ соответственно ($p > 0,05$) и среднего содержания гемоглобина в крови до уровня $104,08 \pm 24,73$ г/л и $116,0 \pm 7,3$ г/л соответственно ($p > 0,05$), относительный лимфоцитоз, более выраженный у больных ЦПВ ($9,28 \pm 3,58\%$

у больных ЦПС против $18,2 \pm 2,7\%$ у больных ЦПВ, $p < 0,05$), а также статистически не отличающийся между группами палочкоядерный сдвиг ($9,46 \pm 2,58\%$ и $9,0 \pm 1,3\%$ у больных ЦПС и ЦПВ соответственно, $p > 0,05$). И у больных ЦПС и у больных ЦПС отмечалось значительное ускорение СОЭ, показатели которой не имели статистически значимых различий между изучаемыми группами ($p > 0,05$).

Анализ результатов биохимического исследования крови показал, что выраженной гипербилирубинемии, несколько более высокой у больных ЦПС ($225,23 \pm 177,27$ мкмоль/л у больных ЦПС против $153,7 \pm 69,9$ мкмоль/л у больных ЦПВ, $p > 0,05$) соответствовал нерезко выраженный цитолитический синдром больных ЦПС (со средней активностью АлАт в сыворотке крови $85,89 \pm 72,71$ ед./л) и более выраженный цитолитический синдром у больных ЦПВ ($248,4 \pm 95,0$ ед./л), $p < 0,05$ (Таблица 3.2.24).

Таблица 3.2.24 – Некоторые лабораторные биохимические показатели у больных ЦПС и ЦПВ

Показатель	ЦПС (n=26)	ЦПВ (n=25)
	М ± m	М ± m
Общий белок (г/л)	$61,39 \pm 10,38$	$61,7 \pm 4,7$
Альбумин (г/л)	$34,2 \pm 4,16$	$30,8 \pm 3,3$
γ-глобулин (%)	$30,13 \pm 7,6$	$32,1 \pm 9,9$
Общий билирубин (мкмоль/л)	$225,23 \pm 177,27$	$153,7 \pm 69,9$
АлАТ (ед./л)	$85,89 \pm 72,71^{\#}$	$248,4 \pm 95,0$
АсАТ (ед./л)	$174,3 \pm 84,6^{\#}$	$403 \pm 144,7$
Протромбин (%)	$60,23 \pm 10,87$	$66 \pm 7,0$
Тимоловая проба (ед.)	$8,74 \pm 2,55$	$9,84 \pm 3,0$
Щелочная фосфатаза (мккат/л)	$202,31 \pm 34,5$	$212,7 \pm 15,8$
Глюкоза (ммоль/л)	$3,92 \pm 0,7$	$3,86 \pm 0,5$
Холестерин (ммоль/л)	$4,01 \pm 1,65$	$3,24 \pm 1,78$
Креатинин, ммоль/л	$0,218 \pm 0,184$ (n=16)	$0,187 \pm 0,156$ (n=25)

Примечание: индекс [#] указывает статистически значимые различия с группой ЦПВ, $p < 0,05$

Снижение белковосинтетической функции печени у больных ЦПС и ЦПВ сопровождалось гипопроteinемией ($61,39 \pm 10,38$ г/л и $61,7 \pm 4,7$ г/л

соответственно, $p > 0,05$) и гипоальбуминемией ($34,2 \pm 4,16$ г/л и $30,8 \pm 3,3$ г/л соответственно, $p > 0,05$), а также снижением протромбинового индекса до $60,23 \pm 10,87\%$ у больных ЦПС и $66 \pm 7,0\%$ у больных ЦПВ ($p > 0,05$). При этом наблюдалось стойкое повышение содержания креатинина в сыворотке крови (средний показатель у мужчин из группы больных ЦПС составил $0,218 \pm 0,184$ ммоль/л, у больных ЦПВ $0,187 \pm 0,156$ ммоль/л, $p > 0,05$).

В ходе клинического наблюдения у всех пациентов из групп ЦПС и ЦПВ был диагностирован хронический гепатит в цирротической стадии с явлениями декомпенсации (прогностический класс С по А. Child, R.H. Pugh, 1973). У пациентов из групп ЦПС и ЦПВ наиболее часто встречались (Таблица 3.2.25) астенический (100%) и диспептический (100%) синдромы, синдром портальной гипертензии (100%), печеночная недостаточность (100%), а также геморрагический синдром (у 46,1% больных ЦПС и 56,0% больных ЦПВ, $p > 0,05$). Отечно-асцитический синдром одинаково часто выявлялся у пациентов из группы больных ЦПС и ЦПВ (73,1% и 68,0% соответственно, $p > 0,05$). Характерным было сочетание нескольких ведущих клинических синдромов с преобладанием одного из них.

Таблица 3.2.25 – Ведущие клинические синдромы у умерших от ЦПС и ЦПВ

Клинический синдром	ЦПС (n=26)		ЦПВ (n=25)	
	Абс.	%	Абс.	%
Астенический синдром	26	100,0	25	100,0
Диспептический синдром	26	100,0	25	100,0
Синдром портальной гипертензии	26	100,0	25	100,0
Отечно-асцитический синдром	19	73,1	17	68,0
Геморрагический синдром	12	46,1	14	56,0
Печеночная недостаточность	26	100,0	25	100,0

Этиологический диагноз ЦПС верифицировался иммуноферментным методом с определением антител к вирусу гепатита С (HCVAb) в сыворотке крови. Верификация этиологии ЦПВ была направлена на выявление антигенов и антител HBV в сыворотке крови, при этом, у больных ЦПВ HBsAg был выявлен лишь у 1/3 пациентов, у остальных больных этиология была верифицирована выявлением других маркеров HBV.

Таким образом, анализ эпидемиологических клинических и лабораторных данных показал видимую схожесть клинических проявлений и лабораторных показателей у больных ЦПС и ЦПВ. Вместе с тем, показано, что больные ЦПС погибали в более раннем возрасте, чем больные ЦПВ, в среднем – на 20 лет ($p < 0,05$). В группе пациентов, умерших от ЦПС, возрастной состав женщин был на 5-6 лет моложе, чем мужчин ($p > 0,05$). Течение заболевания в обеих группах было чаще малосимптомным на догоспитальном этапе на протяжении многих лет, сроки настоящего заболевания не смогли указать 68% больных ЦПВ и более 1/3 больных ЦПС (34,6%), $p > 0,05$. Возможно, адекватной оценке собственного состояния препятствовала алкогольная зависимость у большинства пациентов как в группе больных ЦПС, так и в группе ЦПВ, $p > 0,05$. Вероятно, это обусловило и крайнюю тяжесть больных при поздней госпитализации, и одинаково высокие показатели кратковременного пребывания больных ЦПС и ЦПВ в стационаре ($p > 0,05$). Больные ЦПС и ЦПВ поступали в стационар с теми же жалобами ($p > 0,05$), ведущими клиническими синдромами ($p > 0,05$), обусловленными декомпенсированным циррозом печени. Обращал на себя внимание, при схожести глубоко измененных клинико-лабораторных показателей и однотипной клинической картине заболевания у больных ЦПС и ЦПВ, более выраженный уровень цитолитического синдрома (по активности АЛат в сыворотке крови) у больных ЦПВ ($p < 0,05$).

3.3 Клинико-лабораторная характеристика гепатоцеллюлярных карцином, ассоциированных с HBV и HCV

Для определения особенностей эпидемиологии, клинического течения, изменений клинико-лабораторных показателей у больных ГЦК,

ассоциированных с HCV и HBV методом слепой выборки были сформированы две группы, состоящие из 17 больных ГЦКС и 19 больных ГЦКВ. Больные из изучаемых групп были госпитализированы, находились на стационарном лечении в инфекционном стационаре, умерли там и подверглись патологоанатомическому вскрытию в СПбКИБ им. С.П.Боткина. В Таблице 3.3.26 представлены данные о половом и возрастном составе групп умерших от ГЦКС и ГЦКВ.

Таблица 3.3.26 – Половой и возрастной состав групп больных, умерших от ГЦКС и ГЦКВ

Пол	ГЦКС, n=17			ГЦКВ, n=19		
	Абс.	%	Средний возраст, лет	Абс.	%	Средний возраст, лет
Мужской	17	100,0	61,11±13,99	19	100,0	56,05±9,02
Женский	0	0	-	0	0	-

Все пациенты из групп больных ГЦКС и ГЦКВ были мужчинами, средний возраст умерших был на 5 лет больше у больных из группы ГЦКС (61,11±13,99 лет в группе больных с ГЦКС и 56,05±9,02 лет у больных ГЦКВ, $p>0,05$). Сведения о возможных путях инфицирования HCV или HBV были недостоверными, большинство пациентов переносили в прошлом стоматологические манипуляции, хирургические вмешательства, были донорами или реципиентами крови. Ни один из пациентов при сборе анамнеза не заявил о перенесенном остром вирусном гепатите С или В в прошлом, при более тщательном расспросе указывая на перенесенную, чаще в детстве или молодом возрасте «желтуху». Анамнестические данные о длительности заболевания у больных ГЦКС и ГЦКВ были неопределенными, большинство пациентов из групп больных ГЦКС (70,6%) и ГЦКВ (47,4%), $p>0,05$, не могли указать срок начала заболевания (Таблица 3.3.27). Больные, все-таки ориентировочно указавшие сроки настоящего заболевания, ограничили их периодом до 10 лет (23,5% больных ГЦКС и 42,1% больных ГЦКВ, $p>0,05$). У 1/3 больных ГЦКС (29,4%) и 1/2 больных ГЦКВ (52,6%), $p>0,05$, ХГС и ХГВ соответственно были диагностированы ранее, эти пациенты наблюдались инфекционистом амбулаторно.

Таблица 3.3.27 – Предполагаемые сроки заболевания у больных ГЦКС и ГЦКВ

Предполагаемая длительность заболевания	ГЦКС (n=17)		ГЦКВ (n=19)	
	Абс.	%	Абс.	%
Не известно	12	70,6	9	47,4
Менее 10 лет	4	23,5	8	42,1
Более 10 лет	1	5,9	2	10,5

Больные указывали на волнообразный характер заболевания с возникновением неспецифических симптомов чаще диспептического и астеновегетативного характера, значительно реже – на появление слабо выраженной желтушной окрашенности кожных покровов или периодически возникающее увеличение живота. Наиболее часто больные ГЦКС и ГЦКВ оценивали длительность последнего ухудшения состояния (Таблица 3.3.28) в течение 1-1,5 месяцев (70,6% и 73,7% соответственно, $p > 0,05$) до госпитализации. Трое больных ГЦКС и трое больных ГЦКВ почувствовали ухудшение состояния в течение последних нескольких дней до госпитализации.

Таблица 3.3.28 – Длительность последнего ухудшения состояния перед последней госпитализацией у больных ГЦКС и ГЦКВ

Длительность последнего ухудшения	ГЦКС (n=17)		ГЦКВ (n=19)	
	Абс.	%	Абс.	%
Дни	3	17,4	3	15,8
Месяцы	12	70,6	14	73,7
Годы	0	0	2	10,5

Все больные поступали в стационар по экстренным показаниям, чаще с диагнозом «хронический вирусный гепатит» как в группе ГЦКС (47,0%), так и в группе больных ГЦКВ (78,9%), $p > 0,05$ (Таблица 3.3.29) в тяжелом или крайне тяжелом состоянии. Часть больных ГЦКС и ГЦКВ, по всей видимости, учитывая наличие общей желтухи, гепатоспленомегалии, признаков интоксикации при отсутствии в анамнезе хронических заболеваний печени и видимых признаков портальной гипертензии направлялись в инфекционный стационар с диагнозом «острый вирусный гепатит».

Таблица 3.3.29 – Этапы клинической диагностики при госпитализации больных ГЦКС и ГЦКВ

Диагноз направления	ГЦКС (n=17)		ГЦКВ (n=19)	
	Абс.	%	Абс.	%
Вирусный гепатит	7	41,2	4	21,1
Хронический вирусный гепатит	8	47,0	15	78,9
Острая кишечная инфекция	2	11,8	0	0
Диагноз при поступлении				
Вирусный гепатит	1	5,9	4	21,1
Хронический вирусный гепатит	13	76,4	15	78,9
Острая кишечная инфекция	2	11,8	0	0
Лептоспироз	1	5,9	0	0

Результатом более тщательного сбора анамнеза, подробного осмотра больных в приемном покое инфекционного стационара, явилась предварительная диагностика ХВГ у большинства больных ГЦКС и ГЦКВ (76,4% и 78,9% больных соответственно, $p > 0,05$). Вместе с тем, ни на догоспитальном этапе диагностики, ни в приемном покое инфекционного стационара у больных ГЦКС и ГЦКВ первичная опухоль печени, приведшая к смерти спустя в среднем через 22,5 койко-дня (у больных ГЦКС) и 19,0 койко-дней (у больных ГЦКВ) не была даже заподозрена, что свидетельствует о стертости ее клинических проявлений, замаскированных к тому же более яркими (но не постоянными у всех больных) проявлениями ХГ в стадии цирроза печени, иллюстрацией чему является установление неправильного предварительного диагноза трем пациентам с ГЦКС, у двух из которых на догоспитальном этапе диагностики и в приемном покое инфекционного стационара был установлен диагноз «острая кишечная инфекция», а у одного уже в приемном покое – диагноз «лептоспироз». Сложность клинической диагностики ГЦК, обусловленная стертостью ее клинических проявлений и «замаскированностью» симптомами более ярко клинически проявляющегося ЦП, на фоне которого она развилась, демонстрируется гиподиагностикой ГЦК, когда у 35,2% больных ГЦКС и у 52,6% больных ГЦКВ, $p > 0,05$, даже с применением клинико-лабораторных и инструментально-диагностических методов клинически не была диагностирована смертельная первичная злокачественная опухоль печени. В

качестве основной причины смерти, являющейся основным заболеванием у больных с клинической гиподиагностикой ГЦК в заключительном (посмертном) клиническом диагнозе наиболее часто указывался ХВГ.

Наиболее частой сопутствующей патологией у пациентов была гипертоническая болезнь, чаще в сочетании с распространенным атеросклерозом (у 42,1% больных ГЦКС и у 47,0% больных ГЦКВ, $p > 0,05$). Злоупотребление алкоголем выявлено у 31,5% больных ГЦКС и у 23,5% больных ГЦКВ, $p > 0,05$. Ни один из больных ГЦКС и ГЦКВ не употреблял наркотические препараты.

Клиническое наблюдение продемонстрировало общность клинических симптомов и синдромов у больных ГЦКС и ГЦКВ (Таблица 3.3.30). У всех пациентов из обеих групп наблюдались астенический, диспептический синдромы, синдром портальной гипертензии с выраженными проявлениями в виде расширения подкожных вен передней брюшной стенки, чаще рефрактерного к терапии асцита, варикозного расширения вен пищевода и кардиального отдела желудка.

Таблица 3.3.30 – Ведущие клинические синдромы у умерших от ГЦКС и ГЦКВ

Синдром	ГЦКС (n=17)		ГЦКВ (n=19)	
	Абс.	%	Абс.	%
Астенический синдром	17	100,0	19	100,0
Диспептический синдром	17	100,0	19	100,0
Синдром портальной гипертензии	17	100,0	19	100,0
Отечно-асцитический синдром	15	88,2	17	89,4
Геморрагический синдром	13	76,4	15	78,9
Печеночная недостаточность	17	100,0	19	100,0
Желтуха	14	82,3	15	78,9

Синдром портальной гипертензии наиболее часто сочетался с отечно-асцитическим синдромом, прогрессирующим в последние дни жизни пациентов. У всех пациентов из обеих групп наблюдались проявления хронической печеночной или печеночно-почечной недостаточности, часто сопровождавшиеся развитием геморрагического синдрома (у 76,4% больных ГЦКС и у 78,9% больных ГЦКВ, $p > 0,05$) в виде носовых кровотечений, нередко носящих тяжелый рецидивирующий характер, кровоточивости

десен, развития петехиальных элементов на коже туловища и конечностей, а также массивных кровоизлияний в мягкие ткани в местах инъекций. Для этих групп пациентов было характерно наличие внепеченочных проявлений ХВГ в виде «печеночных ладоней» и сосудистых «звездочек» на коже лица, предплечий и спины. Постоянным симптомом у больных этих групп являлась гепатоспленомегалия, выявляемая как при пальпации и перкуссии, так и при применении инструментально-диагностических методов (УЗИ). Общая желтуха являлась характерным симптомом ГЦК, выявлялась у 82,3% больных ГЦКС и у 78,9% больных ГЦКВ, $p>0,05$, однако лишь у половины этих пациентов она носила очевидный характер (50,0% при ГЦКС и 53,3% при ГЦКВ, $p>0,05$), у остальных пациентов кожные покровы и склеры были субиктеричными. Кроме того, субиктеричность кожных покровов маскировалась легким буроватым их оттенком. Таким образом, яркая желтуха кожных покровов и склер обнаруживалась лишь у 52,9% больных ГЦКС и у 63,1% больных ГЦКВ ($p>0,05$).

Показатели гемограммы у больных ГЦКС и ГЦКВ не имели значимых отличий в сравниваемых группах (Таблица 3.3.31) и демонстрировали наличие анемии.

Таблица 3.3.31 – Показатели гемограммы у больных ГЦКС и ГЦКВ

Показатель	ГЦКС (n=17)	ГЦКВ (n=19)
	М ± m	М ± m
Эритроциты ($\times 10^{12}/л$)	3,45±0,62	3,37±0,88
Гемоглобин (г/л)	112,11±20,36	108,84±31,65
Лейкоциты ($\times 10^9/л$)	9,58±4,03	7,93±3,82
Лимфоциты (%)	27,88 ±12,6	22,89±9,91
Сегментоядерные (%)	59,04±6,46	64,22±4,13
Палочкоядерные (%)	11,15±5,85	8,76±4,82
Моноциты (%)	2,5±0,42	2,26±1,4
СОЭ (мм/ч)	32,58±23,56	28,84±17,93

Средние показатели состояния белого ростка кроветворения в группах в целом находились в границах физиологической нормы, со значительными

колебаниями от лейкопении до лейкоцитоза со сдвигом лейкоцитарной формулы вправо как у больных ГЦКС, так и у больных ГЦКВ. Относительное содержание палочкоядерных лейкоцитов у больных ГЦКС в среднем составило $11,15 \pm 5,85\%$ против $8,76 \pm 4,82\%$ у больных ГЦКВ ($p > 0,05$). Обе группы характеризовались ускоренным СОЭ - у больных ГЦКС со средним показателем $32,58 \pm 23,56$ мм/час и у больных ГЦКВ со средним показателем $28,84 \pm 17,93$ мм/час, $p > 0,05$.

Анализ данных лабораторных биохимических показателей не выявил статистически значимых различий у больных ГЦКС и ГЦКВ (Таблица 3.3.32).

Таблица 3.3.32 – Некоторые лабораторные биохимические показатели у больных ГЦКС и ГЦКВ

Показатель	ГЦКС (n=17)	ГЦКВ (n=19)
	M ± m	M ± m
Общий белок (г/л)	67,52±11,28	69,75±6,33
Альбумин (г/л)	36,14±5,76	38,51±4,12
γ-глобулин (%)	29,32±8,76	31,12±10,82
Общий билирубин (мкмоль/л)	209,17±200,74	134,13±110,14
АлАТ (ед./л)	132,58±113,85	97,68±55,88
АсАТ (ед./л)	149,5±67,65	115,73±67,5
Протромбин (%)	52,64±14,33	57,0±17,01
Тимоловая проба (ед.)	8,74±2,55	11,13±5,8
Щелочная фосфатаза (мккат/л)	396,43±78,51	402,71±66,84
Глюкоза (ммоль/л)	3,61±0,52	3,88±0,5
Холестерин (ммоль/л)	3,221±1,65	3,45±1,27
Креатинин (ммоль/л)	0,198±0,124	0,179±0,136

У пациентов из обеих групп были выявлены: значительное снижение показателей, характеризующих белковосинтетическую функцию печени с диспротеинемией и повышенным содержанием фракции γ-глобулина; гипербилирубинемия, более выраженная у больных ГЦКС (среднее содержание общего билирубина в сыворотке крови у больных ГЦКС составило $209,17 \pm 200,74$ мкмоль/л, у больных ГЦКВ $134,13 \pm 110,14$ мкмоль/л,

$p > 0,05$); гиперферментемия, характеризующая, по активности АлАт в сыворотке крови (более выраженная у больных ГЦКС), уровень повреждения гепатоцитов (средняя активность АлАт в сыворотке крови у больных ГЦКС составило $132,58 \pm 113,85$ ед./л против $97,68 \pm 55,88$ ед./л у больных ГЦКВ, $p > 0,05$); значительное снижение содержания протромбина, а также значительное повышение уровня содержания щелочной фосфатазы, отражающей выраженность холестаза.

Анализ полученных данных показал общность эпидемиологических, клинических и клинико-лабораторных показателей у больных ГЦКС и ГЦКВ. Позднее обращение пациентов с ГЦК за медицинской помощью, часто за несколько недель или дней до наступления смерти была обусловлена неспецифичностью и невыраженностью клинических проявлений, а у 50,0% больных ГЦКС и 53,3% больных ГЦКВ ($p > 0,05$) желтуха была выражена минимально или отсутствовала. Отсутствие достоверных эпидемиологических данных, стертая клиническая картина в дебюте заболевания, когда 70,6% больных ГЦКС и 47,4% больных ГЦКВ не смогли ориентировочно определить сроки настоящего заболевания ($p > 0,05$), преобладание клинических проявлений ЦП на поздних стадиях болезни крайне затрудняло диагностику ГЦК на догоспитальном этапе, на начальном этапе диагностики в многопрофильном инфекционном стационаре, а также при проведении углубленного клинико-лабораторного исследования, следствием чего клиническая гиподиагностика ГЦК была отмечена у 35,2% больных ГЦКС и 52,6% больных ГЦКВ ($p > 0,05$), умерших от ГЦК.

3.4 Анализ причин смерти при циррозах печени и гепатоцеллюлярных карциномах, ассоциированных с HBV и HCV

Хроническая HCV- и HBV-инфекция в ходе естественного течения, несмотря на значительные различия вызывающих их патогенов, различные клинические и морфологические проявления, при неблагоприятном развитии событий приводят к развитию закономерных сходных изменений печени. Такие изменения, обусловленные постоянным повреждением гепатоцитов, постоянной их регенераторной пролиферацией и разрегулированным избыточным патологическим фиброгенезом, приводят к развитию цирроза печени с прогрессированием хронической печеночной недостаточности. Вследствие склеротических изменений портальных трактов и сокращения русла внутripеченочных ветвей воротной вены, несмотря на перестройку ангиоархитектоники печени с формированием шунтов, прогрессируют проявления портальной гипертензии. Развитие этих процессов в условиях хронической HCV- и HBV- инфекции всегда протекает постепенно, с характерными для хронической инфекции периодами обострения и ремиссии; постепенное развитие патологических изменений обуславливает активацию многочисленных компенсаторно-приспособительных механизмов, позволяющих пациентам компенсировать опасные для жизни изменения. Эти обстоятельства обуславливают отсутствие летальности от хронической HCV- и HBV-инфекции на этапе ХГ и компенсированного ЦП, а также высокий уровень летальности от декомпенсированного ЦП при истощении компенсаторно-приспособительных механизмов. ГЦК, являясь злокачественной эпителиальной опухолью печени с выраженной способностью к гематогенному метастазированию, может приводить больных к смерти. Однако, учитывая развитие ГЦК у больных ЦП с различным уровнем компенсации, ее роль в танатогенезе при небольших размерах опухоли и отсутствии или слабой выраженности внутриорганного и отдаленного метастатического поражения может быть незначительной, в

таких случаях в качестве непосредственной причины смерти выступают осложнения ЦП.

Наши данные свидетельствуют о преобладающей роли портальной гипертензии, обусловленной изменением структуры печени вследствие патологического фиброгенеза, в танатогенезе у больных ЦП (Таблица 3.4.33).

Таблица 3.4.33 – Сравнительная характеристика непосредственных причин смерти у больных, умерших от ЦПС и ЦПВ

Причина смерти	ЦПС (n=98)	ЦПВ (n=188)	p
	%	%	
Проявления портальной гипертензии			
Кровотечение из варикозно расширенных вен пищевода	20,4	38,3	p=0,01
Гемоперитонеум на фоне асцита	0,0	1,6	
Портальная интестинопатия	20,4	8,5	p=0,01
Спонтанный бактериальный асцит-перитонит	2,0	1,6	p>0,05
ОССН	15,3	18,1	p>0,05
Всего	58,1	68,1	p=0,05
Проявления геморрагического синдрома			
Носовые или маточные кровотечения	1,0	0,5	
Аррозионное желудочное кровотечение	16,3	11,2	p>0,05
Кровоизлияния в надпочечники	0,0	0,5	
Кровоизлияние в головной мозг	0,0	0,5	
Ятрогенный гемоторакс	0,0	0,5	
Всего	17,3	13,2	
Гнойно-септические осложнения			
Пневмония	6,1	7,9	p>0,05
Вторичный панкреатит	7,1	5,3	p>0,05
Псевдомембранозный колит	0,0	0,5	
Септикопиемия	1,0	1,0	
Всего	14,2	14,7	p>0,05
прочие	10,4	4,0	
Всего	100,0	100,0	

При анализе непосредственных причин смерти у 98 больных ЦПС и 188 больных ЦПВ установлено, что от различных фатальных проявлений портальной гипертензии, среди которых наиболее значимыми были кровотечение из варикозно расширенных вен пищевода, портальная интестинопатия с флегмонозным воспалением стенки кишечника и развитием асцит-перитонита, а также декомпенсация сердечной деятельности при наличии напряженного асцита с высоким стоянием купола диафрагмы и развитием ателектазов нижних долей легких. Проявления портальной

гипертензии чаще приводили к смерти больных ЦПВ (68,1% против 58,1% у больных ЦПС, $p=0,05$).

В структуре полиморфной группы непосредственных причин смерти от проявлений портальной гипертензии, ведущее значение имели кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода, чаще встречавшееся при ЦПВ (38,3% против 20,4% у больных ЦПС, $p=0,01$), а также проявления портальной интестинопатии, наиболее часто в виде флегмонозного поражения стенки тощей и слепой кишок и развития асцит-перитонита, статистически чаще встречавшиеся у больных ЦПС (20,4% против 8,5% у больных ЦПВ, $p=0,01$). Геморрагический синдром, за исключением условно отнесенного к его проявлениям аррозионного желудочного кровотечения, относительно редко непосредственно приводил больных к смерти, хотя был широко распространен у этих пациентов. Аррозионное желудочное или желудочно-тонкокишечное кровотечение, развивающееся одинаково часто у больных ЦПС и ЦПВ ($p>0,05$) в терминальном периоде жизни и непосредственно приводящее к смерти, источником которого являлись эрозии и острые язвы слизистой оболочки желудка и 12-перстной кишки патогенетически были связаны с критическим снижением артериального давления у больных и развитием ишемических повреждений слизистой оболочки с последующим его восстановлением при эффективных реанимационных мероприятиях в условиях реперфузии поврежденной слизистой оболочки и аррозии сосудов.

Гипокоагуляция, наблюдавшаяся у пациентов с хронической печеночной недостаточностью, лишь усугубляла тяжесть аррозионного кровотечения. Гнойно-септические осложнения декомпенсированного цирроза печени, одинаково часто встречающиеся у больных ЦПС и ЦПВ и составляющие 14,2% и 14,7% ($p>0,05$) соответственно, представляли собой полиморфную группу, наиболее часто представленную бактериальной бронхопневмонией и вторичным бактериальным панкреатитом, развивающимся при массивных

стеатонекрозах поджелудочной железы и окружающей ее жировой клетчатки. В редких наблюдениях больных ЦПС и ЦПВ непосредственно приводила к смерти генерализованная, чаще бактериальная, инфекция в виде септикопиемии.

Смертельные осложнения, связанные с портальной гипертензией были полиморфны и наиболее часто были представлены кровотечением из варикозно-расширенных вен пищевода, желудка с развитием массивной кровопотери, скоплениями большого количества свертков крови и жидкой крови в просвете пищевода, желудка и/или кишечника. Микроскопические изменения при этом заключались в значительном расширении вен подслизистого слоя пищевода со значительным истончением стенки, ее очаговой деструкцией и повреждением эпителиальной выстилки.

В редких наблюдениях кровотечений из варикозно-расширенных вен сальника развивался гемоперитонеум на фоне асцита, редко диагностируемый при жизни пациента.

Флегмона кишечника как необратимая стадия портальной интестинопатии [39] также являлась смертельным осложнением. При ее развитии наблюдались изолированные или комбинированные поражения желудка, начальных отделов тощей и слепой кишок с развитием пропотного асцит-перитонита. В отечественной и зарубежной литературе такие изменения обозначаются как «спонтанный бактериальный криптогенный перитонит при циррозе печени». Макроскопически проксимальные отделы тощей кишки на протяжении 20-30 см и проксимальные отделы толстой кишки с захватом слепой и восходящего отдела ободочной кишки были утолщены, отечны, слизистая оболочка была со слабо выраженной складчатостью, желеобразной консистенции. Серозная оболочка измененных отделов кишечника приобретала красный цвет, становилась тусклой, с поверхности разреза стекала мутная жидкость. Микроскопические изменения в стенке измененных отделов кишечника: на фоне тяжелого отека

подслизистого и мышечного слоев отмечалась распространенная нейтрофильная инфильтрация с развитием гнойных панваскулитов. Слизистая оболочка кишечника в этих отделах - с явлениями отека, а воспалительная инфильтрация незначительна. Асцитическая жидкость в таких наблюдениях становилась мутной, с серыми фибриново-лейкоцитарными хлопьями, листки брюшины с распространенными гистологическими проявлениями повреждения и пролиферации мезотелиальной выстилки. В основе таких изменений лежит, вероятно, хроническое венозное полнокровие в системе воротной вены, обуславливающее нарушение оттока крови при прогрессировании портальной гипертензии, приводящее к формированию отека стенки кишки и нарушению механизмов естественной защиты слизистых оболочек; инвазия собственной бактериальной кишечной флоры в стенку кишки через несостоятельную слизистую оболочку, развитие в подслизистом слое гнойного (флегмонозного) воспаления с дальнейшим распространением экссудативного гнойного воспалительного процесса за пределы серозной оболочки с инфицированием асцитической жидкости и развитием асцит-перитонита. Обратимая стадия портальной интестинопатии встречалась несколько чаще необратимой и была представлена отеком стенки желудка и кишечника.

Аналогичные смертельные осложнения, обусловленные декомпенсацией ЦП, наблюдались и у больных ГЦК (Таблица 3.4.34). Вместе с тем, наряду со смертельными осложнениями ЦП, на фоне которого развилась опухоль, больные ГЦКС и ГЦКВ погибали от изменений, вызванных прогрессированием злокачественной эпителиальной опухоли. Конечно, у всех пациентов с ГЦК наблюдались проявления опухолевой интоксикации, у подавляющего большинства больных имелись распадающиеся внутриорганные и отдаленные метастазы опухоли, у части пациентов (64,7% больных, умерших от ГЦКС и 36,8% больных ГЦКВ) на этом фоне опухоль

характеризовалась наличием опухолевого тромбоза основного ствола или внутрипеченочных ветвей воротной вены, однако лишь у 23,6% больных, умерших от ГЦКС и 31,6% больных, умерших от ГЦКВ, непосредственной причиной смерти явилось осложнение прогрессирования опухоли в виде массивного внутрибрюшинного кровотечения с развитием гемоперитонеума на фоне асцита, источником которого стали субкапсулярно расположенные распадающиеся опухолевые узлы печени.

Таблица 3.4.34 – Сравнительная характеристика непосредственных причин смерти у больных, умерших от ГЦКС и ГЦКВ

Причина смерти	ГЦКС (n=17)	ГЦКВ (n=19)	p
	%	%	
Осложнения, обусловленные ростом опухоли			
Внутрибрюшинное кровотечение из распадающихся опухолевых узлов печени	23,6	31,6	p>0,05
Проявления портальной гипертензии			
Кровотечение из варикозно расширенных вен пищевода	29,4	10,5	p>0,05
Портальная интестинопатия	5,9	5,3	p>0,05
ОССН	17,6	21,0	p>0,05
Всего	52,9	36,8	p>0,05
Проявления геморрагического синдрома			
Аррозионное желудочное кровотечение	17,6	31,6	p>0,05
Гнойно-септические осложнения			
Пневмония	5,9	0,0	
Всего	100,0	100,0	

Изменения во внутренних органах при ЦП и ГЦК, развившейся на фоне ЦП, были связаны с нарушением гемоциркуляции, гипоксией, интоксикацией и/или сопутствующей патологией. Некоторые особенности морфологической картины изменений внутренних органов и головного мозга были обусловлены различными механизмами смерти, такими как малокровие и централизация кровообращения при массивных кровотечениях из различных источников или застойное венозное полнокровие при напряженном асците, высоком стоянии купола диафрагмы со сдавлением нижних отделов легких и прогрессирующей легочно-сердечной недостаточностью. Выявляемые изменения являлись типовыми и не зависели

от этиологии и нозологической формы. Изменения селезенки носили постоянный характер. Макроскопически отмечалось значительное увеличение ее массы, капсула была гладкая или слегка морщинистая, красного или красновато-синюшного цвета, консистенция пульпы однородная с острым краем разреза. На разрезе ткань селезенки имела красный цвет, рисунок не был выражен, с поверхности разреза при соскабливании тыльной частью ножа соскоба получить не удавалось. При гистологическом исследовании в ткани селезенки отмечалось резкое уменьшение количества лимфоидных элементов, фолликулы были мелкие, редкие, малоклеточные без герминативных центров. Гистологически в строме постоянно выявлялись признаки нежного фиброза, а также пролиферация ретикулоэндотелия. Красная пульпа чаще была полнокровной, реже, в наблюдениях гнойных осложнений – с обильной миелоидной инфильтрацией. Лимфатические узлы разных групп, особенно в области ворот печени, были увеличенными и характеризовались распространенным лимфоидным опустошением со слабой выраженностью фолликулов без герминативных центров при сохранности в целом своей структуры. Типичной для этого контингента больных являлась «раздраженность» ретикулоэндотелия разной степени выраженности в виде синусного гистиоцитоза. Таким образом, изменения лимфатических узлов и селезенки у больных, умерших от ЦП и ГЦК, как и прочих органов иммуногенеза, имели признаки хронической неспецифической гиперплазии с исходом в выраженное лимфоидное опустошение с компенсаторно-приспособительной гиперплазией ретикулоэндотелия.

Макроскопические изменения надпочечников выражались в постоянном истончении коркового слоя, гистологически - в виде его атрофии, при этом в мозговом слое отмечалась мелкоочаговая лимфоцитарная инфильтрация. Изменения со стороны почек также были постоянны и не имели значимых различий в зависимости от этиологии и

нозологической формы. Они были увеличены в размерах, с коричнево-зеленой окраской и тусклостью поверхности. Фиброзная капсула снималась легко. На разрезе обращали на себя внимание зеленоватый оттенок ткани, её набухание и смазанность рисунка с полнокровием переходной зоны, полнокровием или малокровием пирамидок. При гистологическом исследовании изменения почек характеризовались наличием различных видов белковой дистрофии нефротелия, желчных цилиндров, расположенных в просветах пересеченных канальцев, а также пролиферативными изменениями мезангия и мелкоочаговой лимфоцитарной инфильтрацией интерстиция. Со стороны сердца не отмечалось закономерных изменений размеров и массы, однако, на разрезе миокард был тусклым, полнокровным или малокровным (в случаях смерти от массивных кровотечений). В таких наблюдениях под эндокардом левого желудочка обнаруживались очаговые субэндокардиальные кровоизлияния линейной формы размерами от 0,1 до 1,5 см. В ходе гистологического исследования отмечались тяжелые дистрофические изменения кардиомиоцитов в виде полихромазии, ветвления и фрагментации мышечных волокон, часто наблюдался межмышечный отек разной степени выраженности, изредка – мелкоочаговая лимфоцитарная инфильтрация. В других внутренних органах и головном мозге отмечались дистрофические изменения разной степени выраженности и расстройства микроциркуляции, а также мелкоочаговая лимфоцитарная инфильтрация. Гиперплазия лимфоидной ткани лимфатических узлов и селезенки с исходом в лимфоидное опустошение, мелкоочаговая лимфоцитарная инфильтрация в строме паренхиматозных органов и преимущественно пролиферативные изменения эндотелия сосудов, являясь неспецифическими изменениями, тем не менее, могут являться косвенными признаками внепеченочных проявлений хронической HBV- и HCV-инфекции.

Таким образом, анализ причин смерти у больных ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV показал их общность, проявляющуюся при

естественном течении хронической HBV- и HCV-инфекции в формировании ЦП и ГЦК и посредством развития несовместимых с жизнью осложнений, преимущественно ЦП, - к смерти. Наиболее значимой в танатогенезе является декомпенсация ЦП в виде проявлений портальной гипертензии, обусловленной прогрессирующим фиброзом печени даже после формирования цирротической трансформации (у 58,1% больных, умерших от ЦПС и 68,1% больных, умерших от ЦПВ). И у больных ГЦК портальная гипертензия, обусловленная декомпенсированным ЦП на фоне которого развилась опухоль, была значимой в танатогенезе, когда от проявлений портальной гипертензии, усугубленной опухолевыми разрастаниями в печени погибли 52,9% больных ГЦКС и 36,8% больных ГЦКВ.

3.5 Сравнительная клиничко-лабораторная характеристика хронического гепатита, цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы, ассоциированных с HBV и HCV

Общность патогенетических механизмов развития ХГ, ЦП и ГЦК, являющихся, по современным представлениям, закономерной последовательностью событий, позволяет проводить сравнительный анализ частоты развития симптомов и синдромов у больных ХГ, ЦП и ГЦК разной этиологии. Учитывая преимущественное наличие умеренной и высокой гистологической активности хронического гепатита у больных ЦП и ГЦК, ассоциированных с HCV и HBV, в качестве группы сравнения были использованы лишь те пациенты, страдающие ХГС и ХГВ, гистологическая активность гепатита у которых также была умеренной или высокой (ИГА по Knodell от 9 до 18 баллов).

HCV- и HBV- вирусная инфекция в виде ХГ наиболее часто встречалась у лиц молодого возраста (Таблица 3.5.35). Средняя длительность заболевания у большинства пациентов ХГ не превышала 10 лет (у 93% больных ХГС и 84%

больных ХГВ, $p > 0,05$), а выявленные эпидемиологические особенности, в частности, парентеральная наркомания (чаще встречаемая у пациентов с ХГС - в 35% против 8% у больных ХГВ, $p < 0,05$) наиболее вероятно являлась одной из причин инфицирования гепатотропными вирусами гепатита С и В.

Цирротическая стадия ХГ (ЦП) закономерно развивалась у пациентов более старшего возраста. Средний возраст больных ХГС ($26,7 \pm 10,1$ лет) и ХГВ ($22,1 \pm 6,7$ лет) был значительно ниже ($p < 0,05$) среднего возраста больных ЦПС ($46,0 \pm 13,6$ лет) и ЦПВ ($67,8 \pm 5,3$ лет) соответственно. Наши данные свидетельствуют о значительно более коротких сроках развития цирроза печени у больных ХГС по сравнению с больными ХГВ. Средний возраст умерших от ЦПС был на 20 лет меньше, чем у больных ЦПВ ($46,0 \pm 13,6$ у больных ЦПС и $67,8 \pm 5,3$ у больных ЦПВ, $p < 0,05$).

Таблица 3.5.35 – Средний возраст, длительность заболевания и частота встречаемости пагубных привычек у больных ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HCV и HBV

Группы больных	ХГ		ЦП		ГЦК	
	9–18		9–18		9–18	
ИГА, баллы	9–18		9–18		9–18	
	С	В	С	В	С	В
Этиология	n = 57	n = 25	n = 26	n = 25	n = 17	n = 19
Средний возраст, лет	$26,7 \pm 10,1^*$	$22,1 \pm 6,7^{**}$	$46,0 \pm 13,6^{**}$	$67,8 \pm 5,3^{**}$	$61,1 \pm 13,9^*$	$56,0 \pm 9,0^{**}$
Длительность заболевания, % больных:						
Не известно	0,0	0,0	34,6 [#] *	68,0	70,6*	47,4
Менее 10 лет	93,0	84,0	50,0 [#]	12,0	23,5	42,1
Более 10 лет	7,0	16,0	15,4	20,0	5,9	10,5
Зависимость от алкоголя, % больных	57,8*	44,0	57,6 ^{###} *	52,0 ^{**}	31,5* ^{***}	23,5 ^{**}
Наркомания, % больных	35,0 [#] *	8,0	3,8*	0,0	0,0	0,0

Примечание: индекс [#] указывает на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ/ЦПВ ($p < 0,05$), индексы * и др. указывает на статистически значимые различия между сравниваемыми группами ($p < 0,05$)

Анализ среднего возраста пациентов, инфицированных HCV и умерших от ЦПС и ГЦКС позволяет условно предполагать временные периоды между дебютом ХГС, развитием несовместимого с жизнью ЦПС (в среднем 20 лет) и ГЦКС, приводящей к смерти (в среднем 15 лет). Условный расчет аналогичных периодов при ХГВ, ЦПВ и ГЦКВ позволяет предполагать наличие временных периодов между развитием ХГ и ЦП, ставшим причиной смерти в среднем 45 лет. Вместе с тем, средний возраст умерших от ГЦКВ составил $56,0 \pm 9,0$ лет, что значительно ниже аналогичного показателя у больных ГЦКС ($p < 0,05$) и в среднем на 10 лет меньше, чем возраст умерших от ЦПВ ($p < 0,05$), что косвенно может свидетельствовать о более раннем и стремительно развивающемся процессе гепатоканцерогенеза при HBV-инфекции.

О малосимптомном течении ЦП и ГЦК свидетельствуют данные, согласно которым на момент последней госпитализации, то есть в среднем 25,8 дней у больных ЦПС и 14,3 дней у пациентов с ЦПС, за 22,5 дня у больных ГЦКС и 19,0 дней у больных ГЦКВ до наступления смерти, 34,6% больных ЦПС и 70,6% больных ЦПВ ($p < 0,05$), а также 68,0% больных ГЦКС и 47,4% больных ГЦКВ не смогли указать продолжительность заболевания, а те симптомы заболевания, которые имелись у больных продолжительное время или возникавшие периодически, не являлись поводом для обращения за медицинской помощью. Возможно, низкая обращаемость пациентов за медицинской помощью и сниженная критика по отношению к состоянию своего здоровья были обусловлены высоким уровнем алкоголизации, наиболее распространенной у пациентов с ЦП (у 57,6% больных ЦПС и 52,0% больных ЦПВ, $p > 0,05$). Распространенность хронического алкоголизма у больных ГЦКС и ГЦКВ была значительно ниже, чем у пациентов с ЦПС и ЦПВ (57,6% и 31,5% больных при ЦПС и ГЦКС соответственно, $p < 0,05$; 52,0% и 23,5% больных при ЦПВ и ГЦКВ соответственно, $p < 0,05$).

Клинические проявления у больных ЦП и ГЦК, ассоциированных с HCV и HBV, в основном были обусловлены декомпенсацией цирроза печени, проявляющимся в виде синдрома портальной гипертензии, в том числе с крайней степенью его выраженности в виде отечно-асцитического синдрома вплоть до анасарки, а также проявлениями печеночной недостаточности и геморрагического синдрома (Таблица 3.5.36). У больных ХГС и ХГВ с умеренной и высокой гистологической активностью гепатита, степень выраженности фиброза печени у которых не достигала 4 баллов (по Knodell), этих проявлений заболевания выявлено не было. Вместе с тем, астенический и диспептический синдромы были характерными как у больных ХГ, так и у больных ЦП и ГЦК.

Таблица 3.5.36 – Частота выявления ведущих клинических синдромов у больных ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HCV и HBV

Группы больных	ХГ		ЦП		ГЦК	
	9–18		9–18		9–18	
ИГА, баллы	9–18		9–18		9–18	
Синдром или симптом	С	В	С	В	С	В
	n = 57	n = 25	n = 26	n = 25	n = 17	n = 19
Астенический синдром	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Диспептический синдром	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Синдром портальной гипертензии	0,0	0,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Отечно-асцитический синдром	0,0	0,0	73,1	68,0	88,2	89,4
Геморрагический синдром	5,2	0,0	46,1	56,0	76,4	78,9
Печеночная недостаточность	0,0	0,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Анализ изменений биохимических показателей, характеризующих функциональное состояние печени в зависимости от этиологии и нозологической формы (ХГ, ЦП, ГЦК), несмотря на одинаковую выраженность гистологической активности патологического процесса (умеренный и высокий ИГА по Knodell) у больных из разных групп, показал значимые отличия при различной этиологии только у больных ХГ (Таблица

3.5.37). Так, у больных ХГС с умеренной и высокой гистологической активностью гепатита среднее содержание общего билирубина было ниже, чем у больных ХГВ с такой же гистологической активностью ($21,1 \pm 16,71$ мкмоль/л против $76,28 \pm 19,7$ мкмоль/л соответственно, $p < 0,05$).

Таблица 3.5.37 – Сравнительная характеристика некоторых биохимических показателей у больных ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV

Группы больных	ХГ		ЦП		ГЦК	
	9–18		9–18		9–18	
Показатель	С	В	С	В	С	В
	n = 57	n = 25	n = 26	n = 25	n = 17	n = 19
Общий белок (г/л)	$75,63 \pm 6,13$	$73,22 \pm 5,11$	$61,39 \pm 10,38$	$61,7 \pm 4,7$	$67,52 \pm 11,28$	$69,75 \pm 6,33$
Альбумин (г/л)	$59,17 \pm 4,87^{\#}$ *	$46,21 \pm 4,6$ **	$34,2 \pm 4,16$ *	$30,8 \pm 3,3$ **	$36,14 \pm 5,76$	$38,51 \pm 4,12$
γ -глобулин (%)	$19,22 \pm 3,8$ *	$18,67 \pm 2,17$ **	$30,13 \pm 7,6$ *	$32,1 \pm 9,9$ **	$29,32 \pm 8,76$	$31,12 \pm 10,82$
Общий билирубин (мкмоль/л)	$21,1 \pm 16,71^{\#}$ * ** *	$76,23 \pm 19,7$ ** *****	$225,23 \pm 177,27$ *	$153,7 \pm 69,9$ **	$209,17 \pm 200,74$ ***	$134,13 \pm 110,14$ ****
АлАТ (ед./л)	$173,98 \pm 135,87^{\#}$	$627,2 \pm 223,1$ *	$85,89 \pm 72,71^{\#}$	$248,4 \pm 95,0$ * **	$132,58 \pm 113,85$	$97,68 \pm 55,88$ **
АсАТ (ед./л)	$125,21 \pm 111,4$	$212,43 \pm 123,7$ *	$174,3 \pm 84,6^{\#}$	$403 \pm 144,7$ *	$149,5 \pm 67,65$	$115,73 \pm 67,5$
Протромбин (%)	$89,0 \pm 11,8$ * **	$81,2 \pm 12,5$ *** *****	$60,23 \pm 10,87^*$	$66,0 \pm 7,0$ ***	$52,64 \pm 14,33$ **	$57,0 \pm 17,01$ ****
Тимолова проба (ед.)	$4,3 \pm 2,26$ * **	$5,1 \pm 1,6$ *** *****	$8,74 \pm 2,55^*$	$9,84 \pm 3,0$ ***	$8,74 \pm 2,55$ **	$11,13 \pm 5,8$ ****
Щелочная фосфатаза (мккат/л)	$79,88 \pm 32,21^{\#}$ * **	$98,72 \pm 42,33$ *** *****	$202,31 \pm 34,5$ *	$212,7 \pm 15,8$ ***	$396,43 \pm 78,51$ **	$402,71 \pm 66,84$ ****
Креатинин (ммоль/л)	$0,075 \pm 0,011$ * **	$0,054 \pm 0,01$ *** *****	$0,218 \pm 0,184$ (n=16) *	$0,187 \pm 0,156$ (n=25) ***	$0,198 \pm 0,124$ **	$0,179 \pm 0,136$ ****

Примечание: индекс [#] указывает на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ/ЦПВ или ГЦКВ ($p < 0,05$), индексы * ** и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами ($p < 0,05$)

Среднее содержание общего билирубина в группах больных ЦП и ГЦК, не отличаясь в зависимости от этиологии патологического процесса, было значительно выше, чем в группах больных ХГ ($p < 0,05$). Степень

повреждения гепатоцитов, характеризующаяся активностью сывороточной АлАт, была выше ($p < 0,05$) у больных ХГВ ($627,2 \pm 223,1$ ед./л), чем у больных ХГС ($173,98 \pm 135,87$ ед./л) при одинаковой гистологической активности (ИГА по Knodell 9-18 баллов) и средним показателем ИГА у больных с умеренной гистологической активностью $10,9 \pm 0,9$ балла при ХГС, $10,2 \pm 1,13$ балла при ХГВ, а также показателем ИГА у больных с высокой гистологической активностью гепатита, составившей в среднем $13,7 \pm 0,5$ балла у больных ХГС и $13,83 \pm 0,4$ балла у больных ХГВ.

Аналогичная картина наблюдалась и у больных ЦП, когда средняя активность АлАт в сыворотке крови у больных ЦПВ была значительно выше, чем у больных ЦПС ($248,4 \pm 95,0$ ед./л против $85,89 \pm 72,71$ ед./л соответственно, $p < 0,05$). Синтетическая функция печени, сохраняемая у больных ХГС и ХГВ, имела тенденцию к снижению по среднему уровню содержания общего белка и существенно снижена по среднему уровню содержания протромбина в сыворотке крови у пациентов с декомпенсированным ЦПС ($p < 0,05$) и ЦПВ ($p < 0,05$), а также у пациентов с ГЦКС ($p < 0,05$) и ГЦКВ ($p < 0,05$).

Внутрипеченочный холестаза, документирующийся повышенным уровнем содержания щелочной фосфатазы в сыворотке крови, был характерен для больных ХГВ с умеренным и высоким ИГА с превышением этого показателя по сравнению с больными ХГС ($p < 0,05$). У больных ЦП отмечалось нарастание внутрипеченочного холестаза ($p < 0,05$), достигая максимума у пациентов с ГЦК ($p < 0,05$), при этом на этапе ЦП и ГЦК этиологический фактор не имел влияния на этот показатель.

ЦП в стадии декомпенсации у больных с HCV- и HBV-инфекцией, также как и у больных ГЦК характеризовался наличием, в отличие от больных ХГС и ХГВ ($p < 0,05$), гиперкреатинемии, отражающей тяжесть почечной недостаточности.

Изменения в гемограмме у больных ХГС и ХГВ не отличались, показатели часто находились в пределах физиологической нормы (Таблица 3.5.38). Для больных, умерших от ЦП и ГЦК, в отличие от больных ХГ ($p < 0,05$) была характерна анемия, обусловленная как естественным течением основного заболевания, так и геморрагическими осложнениями. Длительное течение ХГ с трансформацией в ЦП и ГЦК характеризовалось развитием относительной лимфопении с достоверным снижением относительного содержания лимфоцитов в крови у больных ЦПС и ЦПВ по сравнению с больными ХГ ($p < 0,05$), а также у больных ГЦКС и ГЦКВ по сравнению с больными ХГ ($p < 0,05$).

Таблица 3.5.38 – Сравнительная характеристика некоторых показателей гемограммы у больных ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV

Группа больных	ХГ		ЦП		ГЦК	
	С	В	С	В	С	В
ИГА, баллы	9–18		9–18		9–18	
Показатель	С	В	С	В	С	В
	n = 57	n = 25	n = 26	n = 25	n = 17	n = 19
Эритроциты ($\times 10^{12}/л$)	4,33 \pm 0,54	4,21 \pm 0,6	3,23 \pm 0,25	3,6 \pm 0,2	3,45 \pm 0,62	3,37 \pm 0,88
Гемоглобин (г/л)	141,64 \pm 18,6 * **	140,12 \pm 7,5 *** *****	104,08 \pm 24,73 *	116,0 \pm 7,3 ***	112,11 \pm 20,36 **	108,84 \pm 31,65 *****
Лейкоциты ($\times 10^9/л$)	6,21 \pm 1,94	5,92 \pm 0,8	7,09 \pm 1,89	8,36 \pm 1,5	9,58 \pm 4,03	7,93 \pm 3,82
Лимфоциты (%)	31,14 \pm 8,55 *	32,67 \pm 5,3 ** *****	9,28 \pm 3,58 [#] * ***	18,2 \pm 2,7 **	27,88 \pm 12,6 ***	22,89 \pm 9,91 *****
Сегментоядерные (%)	53,78 \pm 7,68	54,02 \pm 8,9	62,0 \pm 4,2	65,2 \pm 3,1	59,04 \pm 6,46	64,22 \pm 4,13
Палочкоядерные (%)	7,6 \pm 3,58	8,5 \pm 2,1	9,46 \pm 2,58	9,0 \pm 1,3	11,15 \pm 5,85	8,76 \pm 4,82
Моноциты (%)	5,76 \pm 2,24	5,91 \pm 2,3	5,4 \pm 0,67	6,0 \pm 1,0	2,5 \pm 0,42	2,26 \pm 1,4
СОЭ (мм/ч)	7,1 \pm 6,44 * **	7,6 \pm 2,3 *** *****	39,08 \pm 20,91 *	32,8 \pm 9,5 ***	32,58 \pm 23,56 **	28,84 \pm 17,93 *****

Примечание: индекс [#] указывает на статистически значимые различия с соответствующей группой ЦПВ ($p < 0,05$), индексы * ** и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами ($p < 0,05$)

Ускоренная СОЭ у больных ЦПС и ЦПВ убедительно отличалась от СОЭ у больных ХГС ($p < 0,05$) и ХГВ ($p < 0,05$) соответственно. Для больных ГЦКС и

ГЦКС также, в сравнении с группами больных ХГС и ХГВ была характерна ускоренная СОЭ ($p < 0,05$).

Таким образом, сравнительный анализ эпидемиологических, клинических и лабораторных особенностей естественного течения ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HCV и HBV, выявил существенные различия изучаемых показателей в зависимости от этиологии и нозологической формы. ХГ наблюдался у лиц молодого возраста, больные ЦП и ГЦК погибали в значительно более старшем возрасте. Наши данные свидетельствуют о значительно более коротких сроках развития цирроза печени у больных ХГС по сравнению с больными ХГВ. Продолжительность жизни больных ЦПС была в среднем на 20 лет меньше, чем больных ЦПВ, что может свидетельствовать о более быстрой прогрессии ЦП при HCV-инфекции. Вместе с тем, учитывая существенно меньшую продолжительность жизни больных ГЦКВ по сравнению с продолжительностью жизни больных ГЦКС, можно предполагать более ранний и быстро развивающийся процесс гепатоканцерогенеза при HBV-инфекции. Хроническая HCV- и HBV-инфекция характеризуются малосимптомным течением, особенно на этапе ЦП и ГЦК, манифестируют в стадии декомпенсации ЦП ее проявлениями. Выраженность цитолитического синдрома, являющегося клинико-лабораторным критерием оценки степени повреждения гепатоцитов отчасти отражает структурные изменения в печени лишь на этапе ХГ, для которого несмотря на тяжесть поражения паренхимы печени не было характерно наличия клинических признаков печеночной недостаточности, тогда как на этапе ЦП и ГЦК отмечается неполное соответствие гистологической активности гепатита и выраженности цитолитического синдрома при наличии клинико-лабораторных проявлений печеночной недостаточности.

ГЛАВА 4 МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ, ЦИРРОЗЕ ПЕЧЕНИ И ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЕ, АССОЦИИРОВАННЫХ С HBV И HCV

4.1 Клинические проявления иммунопатологических механизмов повреждения печени при хронических гепатитах, ассоциированных с HBV и HCV

В настоящем разделе работы освещаются некоторые механизмы клеточного звена иммунопатогенеза, реализующегося в ткани печени при хронической HBV- и HCV-инфекции и приводящего к повреждению гепатоцитов. Характеризуются некоторые субпопуляции Т-лимфоцитов, входящие в состав внутридольковой клеточной инфильтрации паренхимы печени и, по современным представлениям, принимающие непосредственное участие в повреждении гепатоцитов, а также тканевых макрофагов, являющихся неотъемлемой частью стромы печени и имеющих большое значение как в процессе элиминации погибших гепатоцитов, так и инициации патологического фиброгенеза. Иммунопатологические процессы, реализующиеся в ткани печени являются основой морфологических изменений и клинических проявлений ХГВ и ХГС.

4.1.1 Внутридольковые лимфоциты печени, их субпопуляции и внутрипеченочные макрофаги у больных хроническим гепатитом В и хроническим гепатитом С

Обновление клеточного состава паренхимы печени в физиологических условиях осуществляется путем клеточно-опосредованного апоптоза гепатоцитов и обеспечивается присутствием активированных цитотоксических лимфоцитов внутри печеночных долек. Исходя из этого,

наличие немногочисленных лимфоцитов внутри печеночных долек является вариантом нормы и не сопровождается повышением активности аланиновой аминотрансферазы в сыворотке крови. Одним из морфологических признаков ХГ является внутридольковая лимфоцитарная инфильтрация, по сравнению с нормой значительно более интенсивная и неравномерная. Состав лимфоцитарной внутридольковой инфильтрации при ХГ полиморфен, наиболее часто в него входят CD4- и CD8-позитивные Т-лимфоциты, В-лимфоциты и в значительном количестве НК. Макрофаги печени (купферовские клетки), по мнению исследователей [390], являющиеся самой многочисленной популяцией мононуклеарных фагоцитов организма, представлены как в интактной печени, так и в условиях патологии.

Сопоставление уровня содержания лимфоцитов в паренхиме печени у больных ХГС и ХГВ показало существенное превышение этого показателя по сравнению с контрольными значениями (Таблица 4.1.1).

Таблица 4.1.1 – Содержание лимфоцитов, их субпопуляций и макрофагов в паренхиме печени у больных ХГВ и ХГС

Обследуемая группа	n	Содержание клеточных элементов			
		Лимфоциты (абс.) M±m	CD4-лимф., % M±m	CD8-лимф., (%) M±m	CD68, % площади M±m
ХГС	29	32,27±3,47*. [#]	0,064±0,037*. [#]	47,77±2,82*. [#]	4,12±2,44 [#]
ХГВ	29	22,74±3,66*	0,89±0,35	40,95±4,46*	1,8±0,34*
Контроль	5	18,63±0,74	0,88±0,73	27,2±12,2	4,35±1,4

Примечание: * – статистически значимые различия с контролем, [#] – статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ (p<0,05)

Увеличение относительного содержания CD8-позитивных лимфоцитов внутри печеночных долек наблюдалось как у пациентов с ХГС, так и у пациентов с ХГВ с преобладанием у больных ХГС (p<0,05). Содержание внутрипеченочных CD4-позитивных лимфоцитов у больных ХГС было значительно снижено по сравнению с аналогичной группой пациентов с ХГВ (p<0,05) и с контрольными показателями (p<0,05).

Анализ площади, занимаемой макрофагами внутри печеночных долек, показал меньшие значения показателя в группе больных ХГВ по сравнению с группой больных ХГС ($1,8 \pm 0,34\%$ при ХГВ и $4,12 \pm 2,44\%$ при ХГС, $p < 0,05$), что может свидетельствовать о разной макрофагальной активности печени при ХГС и ХГВ.

Изучение содержания лимфоцитов в паренхиме печени, их субпопуляций и макрофагов выявило определенные закономерности в зависимости от фазы инфекционного процесса при ХГВ (Таблица 4.1.2).

Таблица 4.1.2 – Содержание лимфоцитов, их субпопуляций и площади, занимаемой CD68-позитивными макрофагами в паренхиме печени больных ХГВ в зависимости от показателей вирусной активности

Параметры	Наличие параметра	n	Лимфоциты (абс.) M±m	CD4, % M±m	CD8, % M±m	CD68, % площади M±m
HBsAg	-	9	12,1±1,7 ^{1,*}	1,40±0,8 ¹	30,71±5,3 ¹	0,80±0,2 ^{1,*}
	+	17	30,17±5,5 ^{1,*}	0,78±0,4 ¹	42,88±6,5 ^{1,*}	2,46±0,5 ^{1,*}
HBcAb IgM	-	6	27,56±11,8	0,17±0,2 ²	32,98±6,3 ²	1,02±0,2 ^{2,*}
	+	4	29,38±4,4*	1,24±0,7 ²	62,73±13,4 ^{2,*}	4,41±0,8 ²
HBeAg	-	5	16,63±3,6 ²	1,88±1,2 ³	45,70±12,1*	2,48±1,1*
	+	4	45,83±12,6 ^{2,*}	0,0 ³	44,74±15,7	4,46±1,3
HBeAb	-	5	20,83±4,9	0,55±0,4 ⁴	47,61±17,3*	3,19±1,2
	+	14	16,82±3,1	1,30±0,6 ⁴	35,62±4,1	1,09±0,2*
ДНК HBV в печени	-	10	11,67±1,5 ^{3,*}	0,47±0,4 ⁵	32,75±5,6 ³	1,01±0,2 ^{4,*}
	+	17	30,12±5,6 ^{3,*}	1,24±0,6 ⁵	43,09±6,4 ³	2,31±0,5 ^{4,*}
Контроль		5	18,63±0,7	0,88±0,7	27,2±12,2*	4,35±1,4

Примечание: индексы ^{1, 2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами, * – указывает на статистически значимые различия с контролем, ($p < 0,05$)

Значительное увеличение содержания внутридольковых лимфоцитов по сравнению с контрольным показателем и альтернативными группами больных ($p < 0,05$) наблюдалось у пациентов при обнаружении у в сыворотке крови HBsAg ($30,17 \pm 5,54$ против $12,1 \pm 1,66$), HBeAg ($45,83 \pm 12,64$ против $16,63 \pm 3,56$) и выделения ДНК HBV в печеночной ткани ($30,12 \pm 5,55$ против $11,67 \pm 1,53$). Было выявлено снижение относительного содержания CD4-

позитивных лимфоцитов ($p < 0,05$) при обнаружении в сыворотке крови HBsAg ($1,40 \pm 0,8\%$ против $0,78 \pm 0,4\%$) и HBeAg ($1,88 \pm 1,2\%$ против $0,0\%$), тогда как при наличии HBcAbIgM, HBeAb и выявлении репликации HBV в ткани печени ($0,17 \pm 0,2\%$ против $1,24 \pm 0,7\%$, $0,55 \pm 0,4\%$ против $1,30 \pm 0,6\%$ и $0,47 \pm 0,4\%$ против $1,24 \pm 0,6\%$ соответственно) относительное содержание CD4-позитивных лимфоцитов существенно возрастало ($p < 0,05$). Нарастание относительного содержания CD8-позитивных лимфоцитов в паренхиме печени наблюдалось у HBsAg-позитивных и HBcAbIgM-позитивных пациентов, а также у больных с выявлением ДНК HBV в ткани печени ($p < 0,05$). Процент площади, занимаемой макрофагами, был значительно выше ($p < 0,05$) при наличии в крови больных HBsAg ($2,46 \pm 0,5\%$ против $0,8 \pm 0,18\%$), HBcorAbIgM ($4,41 \pm 0,76\%$ против $1,02 \pm 0,23\%$), а в биоптатах печени – ДНК HBV ($2,31 \pm 0,53\%$ против $1,01 \pm 0,19\%$).

Учитывая наличие антител к вирусу гепатита С, выявлявшихся качественным методом в сыворотке крови у всех пациентов с ХГС, степень инфицированности HCV гепатоцитов определялась по распространенности экспрессии неструктурного белка NS3 вируса гепатита С в биоптатах печени с вычислением процента NS3HCV-позитивных гепатоцитов. Экспрессия NS3HCV наблюдалась в цитоплазме гепатоцитов у всех пациентов, однако количество инфицированных гепатоцитов у разных пациентов было разным - от $19,5\%$ до $79,9\%$. Анализ содержания лимфоцитов и макрофагов в паренхиме печени (Таблица 4.1.3) показал значительные отличия при сравнении показателя инфицированности гепатоцитов (менее 50% и более 50% от всей популяции гепатоцитов). Уровень содержания внутридольковых лимфоцитов у больных ХГС превышал контрольный показатель вне зависимости от степени инфицированности гепатоцитов. Вместе с тем, у пациентов с экспрессией NS3HCV менее чем в 50% гепатоцитов уровень абсолютного содержания лимфоцитов внутри печеночных долек достоверно

превышал аналогичный показатель при более высоком уровне инфицированности ($45,3 \pm 23,5$ против $24,2 \pm 8,5$, $p < 0,05$).

Таблица 4.1.3 – Содержание лимфоцитов, их субпопуляций и площади, занимаемой CD68-позитивными макрофагами в перенхиме печени больных ХГС в зависимости от показателя экспрессии NS3HCV в гепатоцитах

Параметр	Уровень инфицированности гепатоцитов	n	Лимфоциты абс. M±m	CD4, % M±m	CD8, % M±m	CD68, % площади M±m
Экспрессия NS3HCV	Менее 50% гепатоцитов	11	$45,3 \pm 23,5^{1,*}$	$0,03 \pm 0,09^{2,*}$	$55,0 \pm 16,7^{3,*}$	$5,5 \pm 2,9^4$
в ткани печени	Более 50% гепатоцитов	18	$24,2 \pm 8,5^{1,*}$	$0,0^{2,*}$	$44,7 \pm 10,0^{3,*}$	$3,2 \pm 1,6^4$
	Контроль	5	$18,63 \pm 0,7$	$0,88 \pm 0,7$	$27,2 \pm 12,2^*$	$4,35 \pm 1,4$

Примечание: индексы ^{1, 2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами, * – указывает на статистически значимые различия с контролем, ($p < 0,05$)

Аналогичная закономерность была выявлена при анализе относительного содержания CD8-позитивных лимфоцитов в паренхиме печени. При уровне инфицированности менее 50% гепатоцитов наблюдался наиболее высокий уровень содержания CD8-позитивных лимфоцитов в паренхиме ($55,0 \pm 16,7\%$), тогда как при инфицировании более 50% гепатоцитов относительное содержание CD8-позитивных лимфоцитов был существенно ниже и составило $44,7 \pm 10,0\%$, $p < 0,05$. Вне зависимости от степени инфицирования гепатоцитов относительное содержание CD4-позитивных лимфоцитов у больных ХГС было крайне низким и достоверно отличалось от контрольного показателя ($p < 0,05$). Площадь, занимаемая CD68-позитивными макрофагами внутри печеночных долек также зависела от уровня инфицирования гепатоцитов и при экспрессии NS3HCV менее чем в 50% гепатоцитов была больше, чем у пациентов с более выраженной инфицированностью гепатоцитов ($5,5 \pm 2,9\%$ против $3,2 \pm 1,6\%$, $p < 0,05$).

Увеличение клинической активности патологического процесса в печени в виде нарастания уровня активности в сыворотке крови АЛАТ, отражающей выраженность повреждения гепатоцитов, сопровождалось нарастанием

уровня содержания в паренхиме печени у больных ХГС и ХГВ преимущественно CD8-позитивных лимфоцитов (Таблица 4.1.4).

Таблица 4.1.4 – Содержание лимфоцитов, их субпопуляций и площади, занимаемой макрофагами в паренхиме печени у больных ХГВ и ХГС в зависимости от выраженности цитолитического синдрома (АлАТ)

АлАТ ед./л	n С/В	Содержание клеток в паренхиме печени (M±m)							
		Лимфоциты (абс.) M±m		CD4-лимф. (%) M±m		CD8-лимф. (%) M±m		CD68 (% площади) M±m	
		HCV	HBV	HCV	HBV	HCV	HBV	HCV	HBV
<40	7/14	27,95±6,93 #, *	12,88±1,4 1,*	0,13±0,13 [#]	0,58±0,51 ¹	41,84±5,92 1, 2, *	35,18±4,73 1, *	3,77±2,56 #	1,02±0,16 1,*
40– 100	10/5	33,88±6,06 #, *	21,30±4,57 2	0,06±0,06 [#]	2,53±1,16 1, 2,*	52,47±5,34 1, *	38,05±15,10	3,52±2,0	0,81±0,20 2, 3,*
>100	9/7	36,24±7,19 *	47,83±9,69 1, 2, *	0,04±0,04 [#]	0,71±0,47 ^{2,3}	49,89±4,19 2,*	46,09±11,04 1, *	5,17±2,75	4,40±0,71 1, 2
Конт роль	5	18,63±0,74		0,88±0,73		27,20±12,20		4,35±1,40	

Примечание: индексы ^{1, 2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами, [#] – указывает на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, * – указывает на статистически значимые различия с контролем, (p<0,05)

По мере утяжеления патологического процесса с нарастанием уровня активности сывороточной АлАт наблюдалась тенденция к увеличению площади, занимаемой CD68-позитивными макрофагами. Наиболее выраженное повышение уровня содержания лимфоцитов и CD68-позитивной площади внутри печеночных долек наблюдалось у больных ХГВ с максимально высоким уровнем активности АлАТ, превышающим 100 ед/л (47,83±9,69% и 4,4±0,71% соответственно против 12,88±1,4% и 1,02±0,16% при активности сывороточной АлАТ менее 40 ед/л, а также против 18,63±0,74% и 1,35±1,4% в контроле, p<0,05). Уровень содержания CD4-позитивных лимфоцитов у больных ХГВ нарастал по мере увеличения цитолитической активности гепатита, а при достижении уровня гиперферментемии (по активности АлАт) более 100 ед/л, наблюдалось

существенное снижение содержания CD4-позитивных лимфоцитов до уровня контрольных показателей.

У больных ХГС, в отличие от больных ХГВ наблюдался более высокий уровень содержания лимфоцитов в паренхиме печени при низкой цитолитической активности хронического гепатита (соответственно в среднем $27,95 \pm 6,93$ и $12,88 \pm 1,4$ клеток, $p < 0,05$). По мере нарастания выраженности цитолитического синдрома, содержание лимфоцитов внутри печеночных долек увеличивалось менее критически. Обращает на себя внимание резкое снижение относительного содержания CD4-позитивных лимфоцитов у больных ХГС вне зависимости от выраженности цитолитического синдрома ($p < 0,05$). В отличие от пациентов с ХГВ, у которых площадь, занимаемая CD68-позитивными макрофагами, сниженная по сравнению с нормальными показателями при низкой цитолитической активности гепатита, достигала нормальных показателей лишь при высоком уровне цитолиза, у больных ХГС площадь, занимаемая CD68-позитивными макрофагами, не отличалась от контрольных показателей.

Возрастание гистологической активности ХГВ и ХГС закономерно характеризовалось увеличением уровня абсолютного содержания внутрипеченочных лимфоцитов, сменяя состояние внутрипеченочной «лимфопении», отмечаемой у больных ХГВ и ХГС с минимальной гистологической активностью ($11,94 \pm 1,84$ при ХГВ и $18,63 \pm 0,74$ в контрольной группе, $p < 0,05$ и $16,50 \pm 1,28$ при ХГС). У больных с минимальной и умеренной гистологической активностью ХГВ содержание лимфоцитов в печеночных дольках не отличалось от контрольных показателей, колеблясь в пределах от $11,94 \pm 1,84$ до $19,17 \pm 4,07$ клеток, а в неизменной ткани печени соответствовало в среднем $18,63 \pm 0,74$ клеткам. У пациентов, страдающих ХГС и ХГВ с высокой гистологической активностью, напротив, среднее содержание лимфоцитов внутри печеночных долек значительно превышало таковое как в контрольной группе, так и в

группах больных с минимальными гистологическими изменениями в печени ($53,2 \pm 9,8$ против $18,63 \pm 0,74$ и $11,94 \pm 1,84$ соответственно; $p < 0,05$) (Таблица 4.1.5).

Таблица 4.1.5 – Содержание лимфоцитов, их субпопуляций и площади, занимаемой макрофагами в паренхиме печени у больных ХГВ и ХГС в зависимости тяжести патологического процесса (ИГА по Knodell)

ИГА, баллы (активность)	Содержание клеток в паренхиме печени (M \pm m)								
	n С/В	CD4, %		CD8, %		Лимфоциты, абс.		CD68, % площади	
		HCV	HBV	HCV	HBV	HCV	HBV	HCV	HBV
1–3 (минимальная)	4/11	0,00 \pm 0,00	0,72 \pm 0,65	39,40 \pm 3,26 ₁	33,85 \pm 6,26	16,50 \pm 1,28 _{1, 2, 3}	11,94 \pm 1,84 _{1, *}	2,42 \pm 0,72 _{1, 2, 3, *, #}	0,99 \pm 0,21 _{1, *}
4–8 (слабая)	8/7	0,00 \pm 0,00	1,06 \pm 0,91	38,37 \pm 3,56 _{2, 3}	38,05 \pm 4,85	21,23 \pm 1,76 _{1, 4, 5, #}	16,17 \pm 1,27 ₂	2,52 \pm 0,69 _{4, 5, *, #}	0,83 \pm 0,14 _{2, *}
9–12 (умеренная)	11/5	0,13 \pm 0,09	0,74 \pm 0,74	51,20 \pm 4,92 ₂	58,4 \pm 13,6	37,42 \pm 4,93 _{2, 4, *, #}	19,17 \pm 4,07 ₃	5,03 \pm 2,63 _{1, 2, 4, *, #}	2,88 \pm 1,1
13–18 (высокая)	6/6	0,06 \pm 0,06	1,13 \pm 0,53	59,61 \pm 5,85 _{1, 3, *}	42,8 \pm 12,8	48,06 \pm 10,26 _{3, 5, *}	53,2 \pm 9,8 _{1, 2, 3, *}	5,68 \pm 2,72 _{3, 5, *, #}	3,53 \pm 0,96 _{1, 2}
Контроль	5	0,88 \pm 0,73		27,2 \pm 12,2		18,63 \pm 0,74		4,35 \pm 1,4	

Примечание: индексы ^{1, 2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами, * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ ($p < 0,05$)

Выявленные закономерности подтверждены результатами корреляционного анализа (Рисунок 5). При ХГВ содержание лимфоцитов внутри печеночных долек коррелировало с наличием у больных маркеров активной репликации вируса (HBsAg, ДНК HBV, $r=0,6$), выраженностью цитолиза ($r=0,7$) и степенью гистологической активности процесса ($r=0,7$). Показатель площади, занимаемой макрофагами, находился в прямой зависимости от вирусной активности (при выявлении у больных HBsAg и HBcorAbIgM $r=0,5$ и $r=0,9$), активности АЛАТ и ИГА ($r=0,5$). Отмечена умеренная степень взаимосвязи между содержанием в ткани печени больных ХГВ лимфоцитов и макрофагов ($r=0,6$). В изменении содержания CD4- и CD8-позитивных лимфоцитов в зависимости от анализируемых показателей закономерностей не было выявлено.

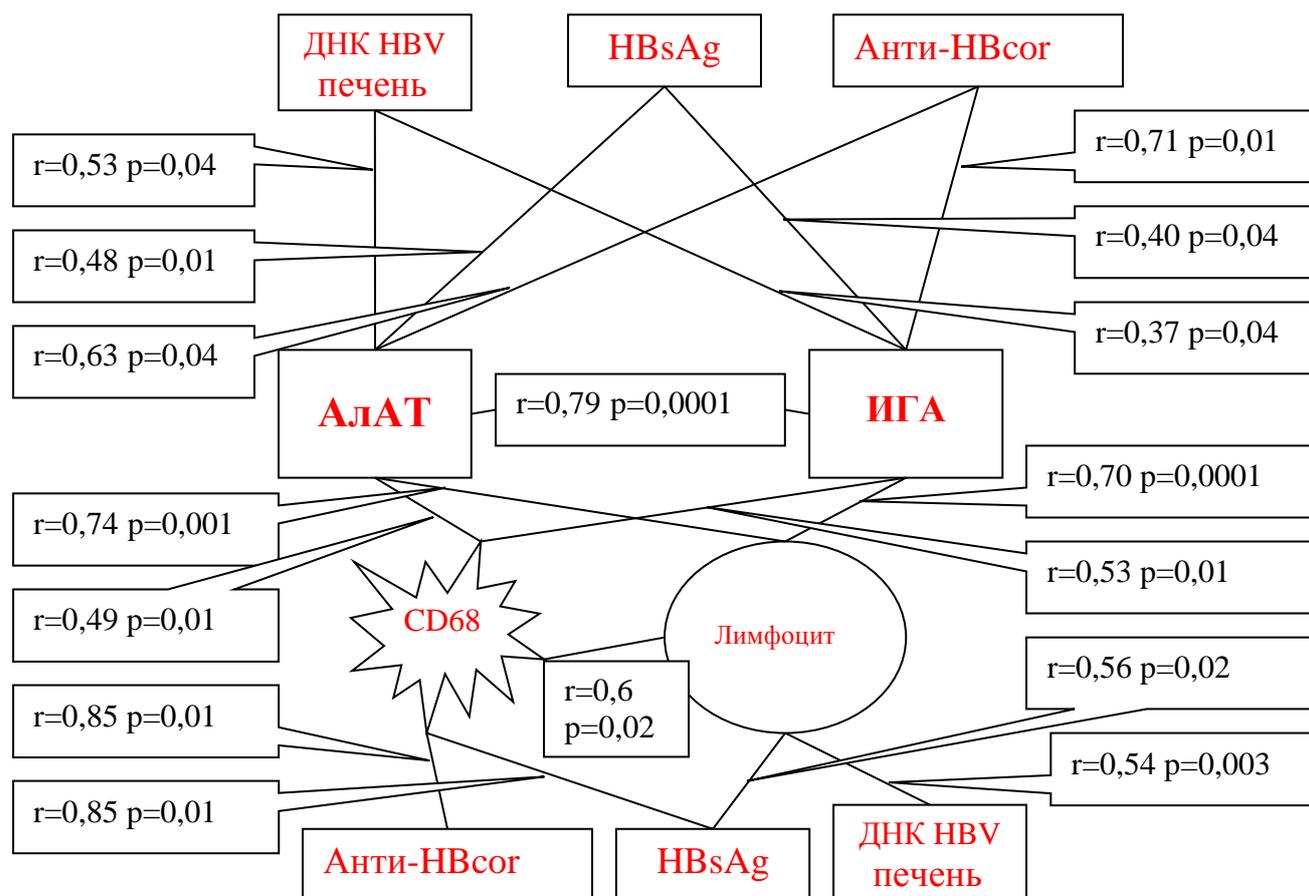


Рисунок 5 – Корреляционные взаимосвязи, характеризующие механизмы повреждения при ХГВ

При ХГС, выявление РНК HCV в сыворотке крови, умеренно коррелировало с нарастанием лимфоцитарной инфильтрации паренхимы печени и увеличением гистологической активности гепатита. Экспрессия же NS3HCV, маркера репликации вируса гепатита С, в гепатоцитах имела слабую отрицательную связь с содержанием лимфоцитов внутри печеночных долек ($r=-0,36$), а также с гистологической активностью гепатита ($r=-0,42$), и оказалась не связанной с показателем площади, занимаемой макрофагами (Рисунок 6). Такой, на первый взгляд, парадоксальный результат, по всей видимости, обусловлен bcl-2-подобными свойствами HCV, путем блокирования апоптоза, приводящего к снижению повреждения гепатоцитов. Так же как и при ХГВ, при ХГС имела высокая степень взаимосвязи между содержанием в ткани печени лимфоцитов и макрофагов ($r=0,72$), а также

умеренная степень взаимосвязи между уровнем содержания лимфоцитов в паренхиме печени и степенью гистологической активности патологического процесса ($r=0,63$).

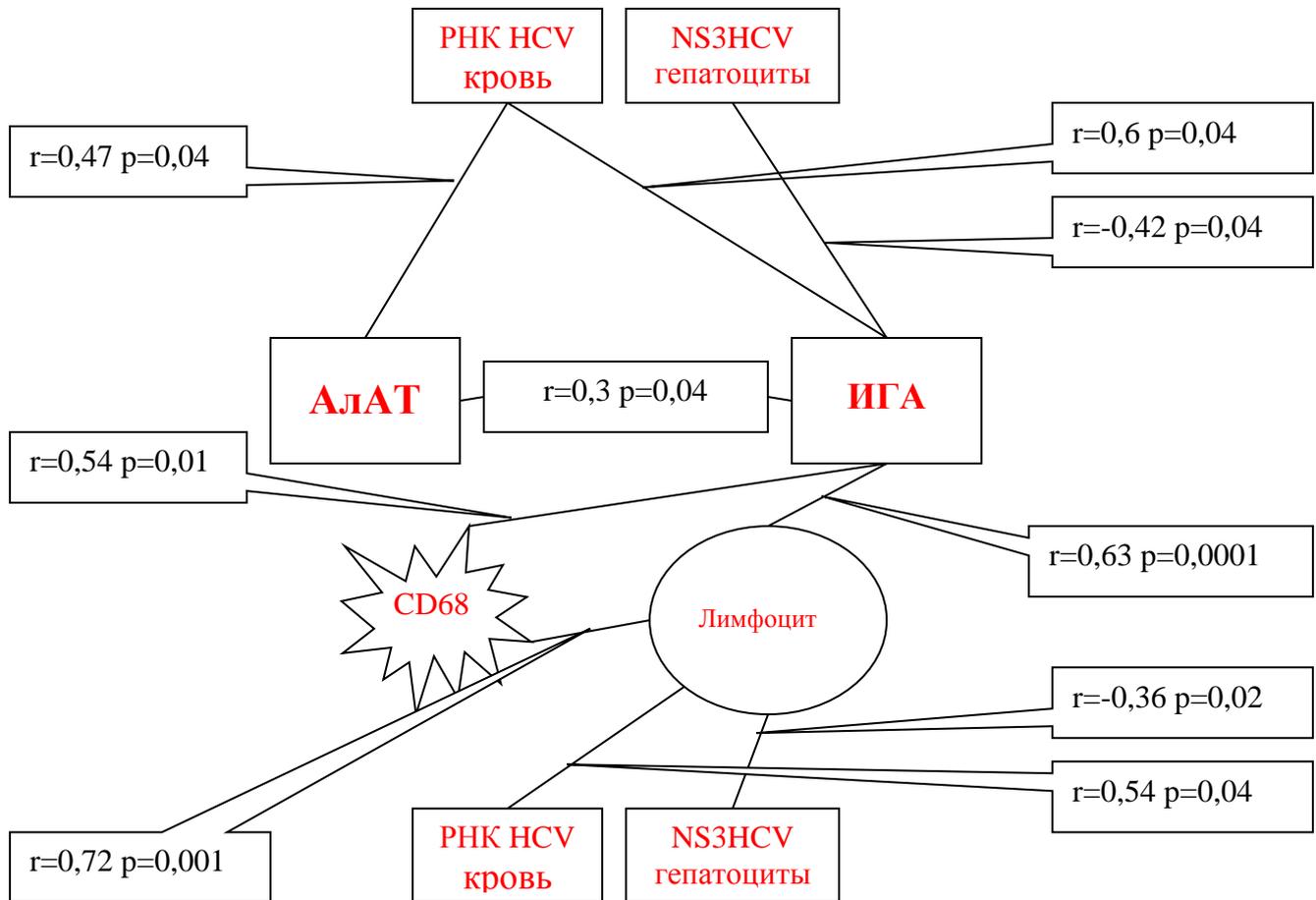


Рисунок 6 – Корреляционные взаимосвязи, характеризующие механизмы повреждения при ХГС

Таким образом, при ХГС уровень абсолютного содержания лимфоцитов в печеночных дольках в зависимости от гистологической активности гепатита существенно превышал таковой при ХГВ и имел тенденцию к возрастанию по мере увеличения тяжести процесса. Увеличение тяжести патологического процесса при ХГВ и ХГС сопровождалось значительным нарастанием относительного содержания внутри печеночных долек CD8-позитивных лимфоцитов с преобладанием при ХГС. Вместе с тем, крайне низкое относительное содержание CD4-позитивных лимфоцитов при ХГС не зависело от гистологической активности гепатита и отличалось как от

контрольных показателей, так и от аналогичного показателя в группе больных ХГВ. Содержание макрофагов, низкое при нетяжелых морфологических изменениях, также значительно возросло при утяжелении патологического процесса в печени. Наименьший процент площади, занимаемой CD68-позитивными клетками, выявлен при ХГВ у лиц с ИГА от 4 до 8 баллов. Площадь, занимаемая CD68-позитивными макрофагами в паренхиме печени при ХГС была значимо большей, чем у больных ХГВ при любой гистологической активности гепатита.

4.1.2 Изменения в системе Fas/FasL и экспрессия bcl-2

внутридольковыми лимфоцитами печени при хроническом гепатите В и хроническом гепатите С

Оценка механизмов регуляции апоптоза внутрипеченочных лимфоцитов при ХГС и ХГВ по экспрессии на поверхности внутридольковых лимфоцитов проапоптозных рецепторов Fas (CD95), FasL и противоапоптозного bcl-2 выявила существенные разнонаправленные тенденции. Количественная характеристика выраженности экспрессии Fas, FasL и bcl-2 в зависимости от характера патологического процесса показала, что в группе больных ХГВ лимфоциты, экспрессирующие Fas, выявлялись значительно чаще, чем в контрольных образцах, и уровень экспрессии был очень высоким ($24,34 \pm 3,36\%$ и $6,93 \pm 3,03\%$ соответственно, $p < 0,05$). Еще более высокий уровень содержания в паренхиме печени лимфоцитов, экспрессирующих Fas наблюдался в группе больных ХГС ($30,27 \pm 3,37\%$, $p < 0,05$). В то же время содержание FasL-позитивных лимфоцитов неожиданно для нас оказалось более высоким в нормальной ткани печени, чем в печени больных ХГВ ($9,75 \pm 0,79\%$ против $5,85 \pm 1,21\%$ при ХГВ, $p < 0,05$), тогда как при ХГС наблюдалась гиперэкспрессия этого антигена ($46,78 \pm 3,52\%$) (Таблица 4.1.6).

Таблица 4.1.6 – Выраженность экспрессии Fas, FasL, bcl-2 на поверхности внутридольковых лимфоцитов у больных ХГС и ХГВ

Обследуемая группа	n	Иммунологические параметры (M±m)				
		bcl-2 % M±m	FasL % M±m	Fas (CD95) % M±m	Индекс FasL/Fas M±m	FasL/Fas/ bcl-2 M±m
ХГС	29	19,50±3,79	46,78±3,52 *.#	30,27±3,37 *	2,18±0,30 #	0,36±0,12
ХГВ	29	18,09±3,01	5,85±1,21*	24,34±3,36*	0,33±0,07*	0,20±0,06
Контроль	5	24,34±3,42	9,75±0,79	6,93±3,03	1,52±0,55	0,23±0,05

Примечание: * – статистически значимые различия с контролем, # – статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ (p<0,05)

Экспрессия внутридольковыми лимфоцитами bcl-2 оказалась одинаковой в группах больных ХГВ, ХГС и в контрольной группе (18,09±3,01%, 19,50±3,79% и 24,34±3,42% соответственно, p>0,05). Для повышения информативности полученных показателей нами был проведен расчет отношения FasL к Fas-рецептору (FasL/Fas) и к bcl-2 (FasL/Fas/bcl-2) [121]. Величина этого отношения была названа нами индексом потенциальной готовности к апоптозу лимфоцитов (IFbcl). Высокое значение этого интегрального показателя предполагает наличие необходимых условий для запуска процесса апоптоза внутрипеченочных лимфоцитов и высокую вероятность его начала. Низкий показатель IFbcl характеризует низкую вероятность запуска процесса апоптоза лимфоцитов. В целом, в группах больных ХГВ и ХГС, несмотря на неравномерное содержание Fas- и FasL-экспрессирующих лимфоцитов, при вычислении индекса (IF/bcl), статистически значимых различий не было обнаружено (Таблица 4.1.6).

Результаты сопоставления состояния системы Fas-FasL и экспрессии bcl-2 на поверхности внутридольковых лимфоцитов печени с активностью вирусного процесса при ХГВ представлены в Таблице 4.1.7. Рецептор Fas на поверхности внутридольковых лимфоцитов независимо от наличия или отсутствия маркеров активной репликации вируса (HBsAg, ДНК HBV в печени) определялся у больных ХГВ значительно чаще, чем на поверхности

лимфоцитов в неизменной печени (от $21,05 \pm 3,97\%$ до $29,89 \pm 8,22\%$ против $6,93 \pm 3,03\%$ в контроле, $p < 0,05$).

Таблица 4.1.7 – Выраженность экспрессии Fas-, FasL- и bcl-2 на лимфоцитах паренхимы печени в зависимости от показателей вирусной активности HBV

Параметры	Наличие параметра	n	bcl-2, % M±m	FasL, % M±m	Fas (CD95), % M±m	Индекс FasL/Fas M±m	IndFbcl M±m
HBsAg	-	9	21,75±8,26	6,88±2,39	29,62±7,27*	0,25±0,06*	0,34±0,15
	+	17	17,23±2,65	4,65±1,47*	21,05±3,97*	0,37±0,11	0,11±0,03
HbcorAb IgM	-	6	11,20±3,89*	4,96±3,14	16,13±4,80	0,39±0,23	0,49±0,27
	+	4	13,99±3,94	3,97±0,65*	10,68±2,04	0,46±0,16	0,13±0,04
HBeAg	-	4	13,14±4,44	3,39±1,77*	11,16±2,62	0,35±0,10	0,46±0,35 ¹
	+	4	15,86±5,49	6,70±4,03	18,92±5,18	0,46±0,23	0,09±0,05 ¹
HBeAb	-	4	12,35±3,50*	2,66±0,74 ^{1,*}	9,72±1,96 ¹	0,43±0,16	0,17±0,053
	+	14	20,60±5,02	6,93±2,08 ¹	27,34±5,72 ^{1,*}	0,35±0,11	0,25±0,11
ДНК HBV в печени	-	10	18,89±4,33	5,62±2,30	29,89±8,22*	0,24±0,06*	0,32±0,18
	+	17	17,64±4,53	5,41±1,42*	22,42±3,65*	0,36±0,09	0,13±0,033
контроль		5	24,34±3,42	9,75±0,79	6,93±3,03	1,52±0,55	0,23±0,05

Примечание: индекс ¹ указывает на статистически значимые различия между сравниваемыми группами, * – указывает на статистически значимые различия с контролем, ($p < 0,05$)

Наличие вирусемии у больных ХГВ не оказывало влияния на уровень содержания Fas-позитивных лимфоцитов в паренхиме печени. Высокая экспрессия Fas на поверхности внутридольковых лимфоцитов отмечена у лиц с низкой инфекционностью, имеющих HBeAb в сыворотке крови ($27,34 \pm 5,72\%$). При отсутствии у больных HBe-антител и в интактной печени содержание Fas-позитивных лимфоцитов было существенно ниже (соответственно $9,72 \pm 1,96\%$ и $6,93 \pm 3,03\%$, $p < 0,05$).

Содержание FasL-позитивных лимфоцитов у больных с выраженной репликацией вируса (HBsAg, HbcorAbIgM, ДНК HBV в печени) не отличалось от значений, определяемых у больных с отсутствием маркеров репликации HBV, но при этом было значительно ниже, чем в контрольной группе ($3,39 \pm 1,77\%$, $3,97 \pm 0,65\%$, $5,41 \pm 1,42\%$ против $9,75 \pm 0,79\%$ в контроле, $p < 0,05$), Таблица 4.1.7. Показатель отношения проапоптозных факторов

FasL/Fas, экспрессирующихся на поверхности лимфоцитов, не отличался в сравниваемых группах. Однако, у HBsAg-негативных больных и у пациентов с отсутствием выявления ДНК HBV в печени величина IndF (FasL/Fas) была ниже контрольных значений ($0,25 \pm 0,06$; $0,24 \pm 0,06$; $1,52 \pm 0,55$ соответственно, $p < 0,05$). Содержание bcl-2-позитивных лимфоцитов в группах, сравниваемых по наличию и отсутствию вирусного антигена в крови и ткани печени, практически не отличалось от нормы. У больных с отсутствием антител к HBc- и HBe-антигену при сравнении с контролем обнаружено снижение уровня экспрессии bcl-2 ($11,20 \pm 3,89\%$; $12,35 \pm 3,50\%$ против $24,34 \pm 3,42\%$ в контроле, $p < 0,05$). Индекс потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу (IFbcl, или FasL/Fas/bcl-2) оказался достоверно более высоким у пациентов с отсутствием HBeAg в сыворотке крови, чем у на HBeAg-позитивных лиц ($0,46 \pm 0,35$ и $0,09 \pm 0,05$ соответственно, $p < 0,05$). Остальные серологические показатели, равно как и наличие ДНК HBV в ткани печени влияния на величину IFbcl не оказывали.

Таким образом, у больных ХГВ при репликации HBV существенных отличий от группы без репликации HBV в экспрессии Fas, FasL и bcl-2 на поверхности внутрипеченочных лимфоцитов выявлено не было. Вместе с тем, обращает на себя внимание достоверное снижение величины индекса потенциальной готовности к апоптозу внутридольковых лимфоцитов печени при наличии в крови HBeAg, низкое по сравнению с контрольной группой содержание FasL и высокий показатель экспрессии Fas у пациентов с низкой инфекционностью.

При ХГС вне зависимости от выраженности экспрессии NS3HCV паренхиме печени, характеризующей степень инфицированности гепатоцитов, отмечалось, как и в группе больных ХГВ, значительное превышение относительно контрольных показателей содержания Fas-позитивных лимфоцитов внутри печеночных долек (Таблица 4.1.8). Вместе с тем, вне зависимости от степени инфицированности гепатоцитов у больных

ХГС количество внутридольковых FasL-позитивных лимфоцитов значительно превышало контрольные показатели, отличаясь от выявленной тенденции в группе больных ХГВ.

Таблица 4.1.8 – Выраженность экспрессии Fas-, FasL- и bcl-2 на лимфоцитах паренхимы печени в зависимости от показателя экспрессии NS3HCV в гепатоцитах

Параметр		n	bcl-2 лимф. (%) M±m	FasL-лимф. (%) M±m	CD95/Fas- лимф. (%) M±m	индекс FasL/Fas M±m	IndFbcl M±m
Экспрессия NS3HCV в ткани печени	Менее 50% гепатоцитов	11	17,57±15,6	43,09±14,16*	28,39±11,71*	2,85±1,4 ^{1,*}	0,27±0,1 ²
	Более 50% гепатоцитов	18	22,74±22,03	49,12±21,52*	31,31±21,34*	4,54±1,57 ^{1,*}	0,38±0,15 ^{2,*}
контроль		5	24,34±3,42	9,75±0,79	6,93±3,03	1,52±0,55	0,23±0,05

Примечание: индексы ^{1,2} указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами, * – указывает на статистически значимые различия с контролем, (p<0,05)

Повышение относительного содержания FasL-позитивных лимфоцитов в паренхиме печени подтверждает их агрессивную настроенность в том числе против клеток собственной популяции, что при низкой экспрессии противоапоптозного гена bcl-2 на поверхности внутридольковых лимфоцитов подтверждается не только выраженным возрастанием индекса FasL/Fas, но и индекса потенциальной готовности к апоптозу внутридольковых лимфоцитов (p<0,05) относительно нормы.

Увеличение числа инфицированных HCV гепатоцитов влекло за собой возрастание экспрессии проапоптозных генов на поверхности внутридольковых лимфоцитов, приводящее к нарастанию индекса FasL/Fas (p<0,05) и, при отсутствии увеличения уровня экспрессии антиапоптозного гена bcl-2, к нарастанию индекса потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу (p<0,05).

Сопоставление выраженности экспрессии проапоптозных Fas, FasL и противоапоптозного фактора bcl-2 с клинической активностью процесса (Таблица 4.1.9) показало, что значительное снижение экспрессии bcl-2 происходило у больных ХГВ с максимально высоким уровнем активности АлАТ ($10,65 \pm 2,92\%$ против $22,98 \pm 5,43\%$ при низкой активности АлАТ и $24,34 \pm 3,42\%$ в контроле, $p < 0,05$). У больных ХГС, напротив, максимальные значения экспрессии bcl-2 на поверхности внутридольковых лимфоцитов наблюдались при наиболее высоких показателях активности АлАТ ($23,76 \pm 4,79\%$).

Таблица 4.1.9 – Выраженность экспрессии Fas, FasL и bcl-2 на лимфоцитах паренхимы печени в зависимости от выраженности цитолитического синдрома (по активности АлАТ) у больных ХГС и ХГВ

АлАТ ед./л	n С/В	bcl-2 M±m (%)		FasL M±m (%)		Fas (CD95) M±m (%)		IndF (IF) M±m		IF/ bcl M±m	
		С	В	С	В	С	В	С	В	С	В
<40	7/14	15,43±3,53 #	22,98±5,43	50,30±6,92 *,#	4,62±1,7 *	24,16±3,52 *	26,94±6,06 *	2,29±0,38 #	0,29±0,12 *	0,17±0,03 #	0,26±0,12
40– 100	10/5	15,41±6,57	18,48±5,00	36,54±4,77 *,#	7,46±3,57	30,47±5,84 *	25,169±8,87	1,96±0,67 #	0,31±0,10 *	0,58±0,31 #	0,17±0,07
>100	9/7	23,76±4,79 #	10,65±2,92 *	46,03±3,77 *,#	5,56±2,21	29,25±6,57 *	19,02±4,43 *	2,23±0,42 #	0,4±0,13	0,15±0,05	0,11±0,03
Контр оль	5	24,34±3,42		9,75±0,79		6,93±3,03		1,52±0,55		0,23±0,05	

Примечание: индекс # указывает на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ ($p < 0,05$), * – указывает на статистически значимые различия с контролем, ($p < 0,05$)

Уровень экспрессии рецептора Fas при изменении активности АлАТ статистически значимо не менялся, но при этом во всех сравниваемых группах процент Fas-позитивных лимфоцитов значительно превышал контрольные показатели. Экспрессия Fas на поверхности внутридольковых лимфоцитов у больных ХГВ колебалась при разных показателях активности АлАТ от $19,02 \pm 4,43\%$ до $26,94 \pm 6,06\%$, а у больных ХГС от $24,16 \pm 3,52\%$ до $30,47 \pm 5,84\%$ против $6,93 \pm 3,03\%$ в нормальной ткани печени, $p < 0,05$. Экспрессия FasL не зависела от выраженности цитолитического синдрома, показатель экспрессии FasL при ХГС значительно ($p < 0,05$) превышал таковой при ХГВ (от $4,62 \pm 1,7\%$ до $7,46 \pm 3,57\%$ при ХГВ; от $36,54 \pm 4,77\%$ до

50,30+6,92% при ХГС). При сравнении с контрольными показателями обнаружено более низкое содержание FasL-позитивных лимфоцитов при низком уровне активности АлАТ у больных ХГВ ($4,62 \pm 1,7\%$ и $9,75 \pm 0,79\%$ в контроле, $p < 0,05$) и значительно более высокое их содержание у больных ХГС вне зависимости от уровня цитолиза. Показатель индекса IF/bcl_1 , характеризующего степень потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу, у больных ХГВ существенно снижался по мере нарастания клинической активности процесса (от $0,26 \pm 0,12$ до $0,11 \pm 0,03$, $p < 0,05$) и был значительно ниже такового в контрольной группе.

Таким образом, больные ХГВ в состоянии клинической ремиссии характеризуются значительным повышением экспрессии Fas и низким уровнем экспрессии FasL на поверхности внутридольковых лимфоцитов, нормальными показателями содержания внутридольковых bcl_2 -позитивных лимфоцитов и индекса потенциальной готовности к апоптозу. Для состояния клинической ремиссии у больных ХГС характерны гиперэкспрессия Fas и FasL на поверхности внутридольковых лимфоцитов, снижение содержания экспрессирующих bcl_2 внутридольковых лимфоцитов, а также низкая потенциальная готовность внутридольковых лимфоцитов к апоптозу.

Больные ХГВ в фазе клинического обострения отличаются умеренным повышением экспрессии Fas на поверхности внутридольковых лимфоцитов, нормальным содержанием FasL-позитивных внутридольковых лимфоцитов, низким уровнем экспрессии bcl_2 на них и снижением индекса IF/bcl_1 , свидетельствующего о низкой потенциальной готовности лимфоцитов к апоптозу. Наступление фазы клинического обострения у больных ХГС сопровождается увеличением содержания внутри печеночных долек Fas- и FasL-позитивных лимфоцитов, значительно превышающего нормальные показатели, а также нормализацией содержания bcl_2 -позитивных лимфоцитов и индекса потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу.

Из приведенных данных видно, что нарастанию степени активности патологического процесса у больных ХГВ и ХГС соответствуют изменения функционального состояния внутрипеченочных лимфоцитов, в определенной мере направленные на снижение их апоптоза, на что и указывают низкие по сравнению с контрольной группой показатели индекса потенциальной готовности лимфоцитов к апоптозу, что в свою очередь, при сохранении высокого содержания популяции внутридольковых лимфоцитов, может приводить к прогрессии иммуноопосредованного повреждения гепатоцитов.

Результаты сопоставления экспрессии проапоптозных генов Fas, FasL и антиапоптозного гена bcl-2 на поверхности внутрипеченочных лимфоцитов со степенью гистологической активности процесса у больных ХГВ и ХГС представлены в Таблице 4.1.10.

Таблица 4.1.10 – Уровень экспрессии Fas, FasL и bcl-2 на поверхности лимфоцитов паренхимы печени у больных ХГВ и ХГС в зависимости от тяжести патологического процесса (ИГА по Knodell)

ИГА, баллы	n С/В	bcl-2 M±m (%)		FasL-лимф. M±m (%)		Fas (CD95) M±m (%)		IndF M±m		IF/bcl M±m	
		С	В	С	В	С	В	С	В	С	В
1–3	4/11	15,36±6,80	21,05±7,11	58,68±4,68 ^{1,2,*,#}	3,93±1,37 [*]	21,26±5,69	32,56±7,44 ^{*(n=9)}	3,78±1,31 [#]	0,21±0,06 [*]	0,83±0,67	0,16±0,05
4–8	8/7	33,28±11,60	18,87±3,72	46,33±7,68 ^{*,#}	6,01±2,62	33,79±6,58 [*]	17,61±3,28 [*]	1,90±0,56 [#]	0,3±0,11 [*]	0,33±0,23	0,31±0,20
9–12	11/5	14,32±2,52	18,03±2,85	42,54±5,13 ^{1,*,#}	10,23±4,1	28,98±5,46 [*]	20,56±9,81	1,97±0,38 [#]	0,65±0,25	0,17±0,03	0,23±0,08
13–18	6/6	13,38±5,17	11,78±4,82	47,23±9,71 ^{*,#}	5,54±2,67	33,92±9,27 [*]	23,0±4,24 [*]	1,87±0,50 [#]	0,3±0,12 [*]	0,42±0,21 [#]	0,09±0,03 [*]
9–18	17/11	13,99±2,35 [*]	14,62±2,97 [*]	44,20±4,62 ^{2,*,#}	7,67±2,36	30,73±4,68 [*]	21,9±4,75 ^{*(n=9)}	1,93±0,29 [#]	0,46±0,14	0,25±0,08	0,16±0,05
Контроль	5	24,34±3,42		9,75±0,79		6,93±3,03		1,52±0,55		0,23±0,05	

Примечание: индексы ^{1, 2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами, * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ (p<0,05)

Экспрессия bcl-2 на поверхности внутрипеченочных лимфоцитов как у больных ХГВ, так и ХГС имела тенденцию к снижению по мере утяжеления морфологических изменений. При сопоставлении этого показателя у пациентов ХГВ и ХГС с наиболее тяжелыми морфологическими изменениями в печени и в контрольной группе выявлено отчетливое снижение содержания

внутрипеченочных bcl-2-позитивных лимфоцитов ($14,62 \pm 2,97$ % при ХГВ и $13,99 \pm 2,35$ % при ХГС против $24,34 \pm 3,42$ % в контроле, $p < 0,05$).

Уровень экспрессии Fas-рецептора находился в одних и тех же пределах независимо от величины ИГА (от $17,61 \pm 3,28$ % до $32,56 \pm 7,44$ %, $p > 0,05$ при ХГВ и от $21,26 \pm 5,69$ % до $33,92 \pm 9,27$ %, $p > 0,05$ при ХГС). Но при этом во всех случаях относительное количество Fas-позитивных лимфоцитов превышало значения нормы ($p < 0,05$). Сравнение выраженности экспрессии FasL на поверхности внутридольковых лимфоцитов с контрольной группой выявило значительное снижение относительного содержания FasL-позитивных лимфоцитов у больных ХГВ с минимальной тяжестью патологического процесса ($3,93 \pm 1,37$ % против $9,75 \pm 0,79$ % в контроле, $p < 0,05$). В дальнейшем при умеренном увеличении гистологической активности у больных ХГВ отмечено значительное повышение содержания FasL-позитивных лимфоцитов внутри печеночных долек (от $3,93 \pm 1,37$ % до $10,23 \pm 4,1$ %, $p < 0,05$). У больных ХГС отмечалась гиперэкспрессия FasL на поверхности внутридольковых лимфоцитов, максимальное значение этого показателя было зарегистрировано при минимальной гистологической активности ХГС ($58,68 \pm 4,68$ %). Показатели отношения FasL/Fas у больных ХГВ существенно не различались, но все они были значительно ниже нормы (Таблица 4.1.10). Величина этого показателя отличалась в группе больных ХГС вне зависимости от гистологической активности патологического процесса. Величина индекса IF/bcl также не зависела от величины ИГА, оставаясь одинаковой в сравниваемых группах больных ХГВ и ХГС (от $0,09 \pm 0,03$ до $0,31 \pm 0,20$, $p > 0,05$ при ХГВ и от $0,17 \pm 0,03$ до $0,83 \pm 0,67$, $p > 0,05$ при ХГС). Но при сопоставлении с контрольной группой было отмечено снижение индекса потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу относительно нормы у больных ХГВ с наиболее тяжелыми изменениями в печени ($0,09 \pm 0,03$ против $0,23 \pm 0,05$ в контроле, $p < 0,05$).

Из приведенных данных видно, что для больных ХГВ с минимальной гистологической активностью характерна наиболее высокая экспрессия Fas и

наиболее низкая – FasL на поверхности внутридольковых лимфоцитов, нормальное содержание bcl-2-позитивных лимфоцитов и снижение индекса потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу. Для больных ХГС с минимальной гистологической активностью гепатита характерна высокая экспрессия как Fas, так и FasL при снижении содержания внутридольковых лимфоцитов, экспрессирующих bcl-2, и как следствие – повышение индекса потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу.

Больные ХГВ с высокой гистологической активностью отличались умеренным повышением экспрессии Fas, тенденцией к увеличению экспрессии FasL, снижением содержания bcl-2-позитивных внутридольковых лимфоцитов, но при этом, наиболее низкой степенью потенциальной готовности лимфоцитов к апоптозу как по величине индекса IndF, так и по значению индекса IF/bcl. Для больных ХГС с высокой гистологической активностью характерно увеличение показателей экспрессии Fas и FasL при снижении экспрессии bcl-2 на поверхности внутрипеченочных лимфоцитов при сохранении в пределах контрольных показателей степени потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу.

Наличие прямой корреляционной связи величин IndF и IF/bcl с показателями экспрессии FasL на поверхности внутридольковых лимфоцитов и между собой ($r=0,83$; $0,63$ и $0,73$) и обратной связи IF/bcl с показателем экспрессии bcl-2 ($r=-0,61$) при ХГВ в целом свидетельствует о сопряженности этих процессов. При ХГС, наряду с наличием умеренных корреляционных связей показателей IndF с FasL ($r=0,4$) и IndF с IF/bcl ($r=0,52$), взаимосвязь между индексом потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу и экспрессией FasL на поверхности лимфоцитов отсутствует ($r=0,002$), что, по всей видимости, демонстрирует разные патогенетические механизмы апоптоза при этих нозологических формах.

Различное функциональное состояние внутридольковых лимфоцитов, обусловленное разным характером экспрессии на их поверхности про- и противоапоптозных факторов, иллюстрируется клиническими примерами (клинический пример 2 и 3).

Клинический пример 2.

Больной В., 22 лет, поступил в инфекционный стационар с жалобами на утомляемость, слабость, дискомфорт в верхней части живота. При физикальном обследовании – умеренная гепатомегалия. В общем анализе крови – ускоренное СОЭ (23 мм/час); в биохимическом анализе крови активность АлАТ – 10N, билирубин 32 ммоль/л. Данные серологических исследований в периферической крови: выявлены HBsAg и анти-HBcorAg IgM. Полимеразная цепная реакция выявила наличие ДНК HBV в крови. Биопсия печени: хронический гепатит с высокой гистологической активностью (ИГА по Knodell 13 баллов) и расширение портальных трактов за счет фиброза. При иммуногистохимическом исследовании экспрессия FasL, Fas и bcl-2 выявлена на поверхности 5,3%, 22,7% и 13,2% внутридольковых лимфоцитов соответственно. Индекс потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу (IF/bcl-2), определяемый вычислением отношения FasL к Fas и bcl-2 (FasL/Fas/bcl-2) оказался низким и составил 0,01. Больному был установлен диагноз: хронический вирусный гепатит В, фаза репликации, с высокой гистологической активностью (ИГА по Knodell – 13 баллов) и слабо выраженным фиброзом (степень выраженности фиброза по Knodell 1 балл).

Клинический пример 3.

Больной Н., 19 лет, был госпитализирован в инфекционный стационар для обследования и установления диагноза по направлению военного комиссариата, где при прохождении медицинской комиссии впервые были выявлены антитела к вирусу гепатита С. Больной жаловался на утомляемость и снижение аппетита. При физикальном обследовании была выявлена умеренная гепатоспленомегалия. В общем анализе крови – ускоренное СОЭ (13 мм/час); в биохимическом анализе крови активность АлАТ – 5N, билирубин 10 ммоль/л. Данные серологических исследований в периферической крови: выявлены анти-HCV. Полимеразная цепная реакция выявила наличие РНК HCV в крови. Биопсия печени: хронический гепатит с высокой гистологической активностью (ИГА по Knodell 13 баллов) и расширение портальных трактов за счет фиброза. При иммуногистохимическом исследовании экспрессия FasL, Fas и bcl-2 выявлена на поверхности 49,8%, 23,6% и 8,2% внутридольковых лимфоцитов соответственно. Индекс

потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу (IF/bcl-2), определяемый по вычислению отношения FasL к Fas и bcl-2 (FasL/Fas/bcl-2) составил 0,26. Больному был установлен диагноз: хронический вирусный гепатит С, фаза репликации, с высокой гистологической активностью (ИГА по Knodell – 13 баллов) и слабо выраженным фиброзом (степень выраженности фиброза по Knodell 1 балл).

Клинические примеры 2 и 3 показывают, что повреждение гепатоцитов при формально схожих морфологических проявлениях (в клинических примерах соответствующих высокой гистологической активности хронического гепатита) в зависимости от функционального состояния внутридольковых лимфоцитов может быть разным. Низкий уровень потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу у больного ХГВ в примере 2 сопровождается высоким уровнем повреждения гепатоцитов, документированным высокой активностью АлАт в сыворотке крови, тогда как высокий уровень потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу у больного ХГС в примере 3, сопровождающийся их низкой функциональной активностью, приводит к меньшему уровню повреждения гепатоцитов с более низкой выраженностью цитолитического синдрома. Такие особенности функционального состояния внутридольковых лимфоцитов объясняют частое несоответствие клинических и морфологических проявлений ХГ.

Таким образом, репликация HBV при ХГВ приводит к структурным изменениям в печеночной ткани: наличие HBsAg коррелирует с увеличением количества внутридольковых лимфоцитов ($r=0,57$) и тканевых макрофагов ($r=0,49$); наличие ДНК HBV в ткани печени – с увеличением содержания внутридольковых лимфоцитов ($r=0,52$); наличие HBcorAbIgM – с повышением числа макрофагов ($r=0,85$) внутри печеночных долек.

Выполненный анализ взаимосвязи содержания внутри печеночных долек клеток различных популяций с клиническими и морфологическим показателями тяжести заболевания при ХГВ, определяемыми по репликации

HBV, активности АлАТ и ИГА (Таблица 4.1.11), позволил сделать заключение о том, что у больных с наличием признаков репликации HBV – HBsAg, HBcorAb IgM в сыворотке крови и ДНК HBV в ткани печени, характерно повышение содержания внутрипеченочных лимфоцитов и макрофагов, сниженная по сравнению с контролем экспрессия FasL на поверхности внутрипеченочных лимфоцитов, а также низкая потенциальная готовность лимфоцитов к апоптозу.

Таблица 4.1.11 – Иммуноморфологические особенности различных вариантов течения ХГВ

Иммуно-морфологические параметры	Направленность изменений лабораторных показателей					
	HBsAg		АлАТ		ИГА	
	+	-	+	-	+	-
Содержание внутрипеченочных лимфоцитов	↑	↓	↑	↓	↑	↓
Содержание внутрипеченочных макрофагов	↓	↓	N	↓	N	↓
Внутрипеченочные CD4 ⁺ -лимфоциты	N	N	N	N	↑	N
Внутрипеченочные CD8 ⁺ -лимфоциты	↑	N	↑↑	↑	↑	N
Экспрессия Fas на внутрипеченочных лимфоцитах	↑	↑↑	↑	↑↑	↑	↑↑
Экспрессия FasL на внутрипеченочных лимфоцитах	↓	N	N	↓	N	↓
Экспрессия bcl-2 на внутрипеченочных лимфоцитах	N	N	↓	N	↓	N
IF/ bcl внутрипеченочных лимфоцитов	↓	N	↓	N	N	↓
IndF внутрипеченочных лимфоцитов	↓	↓	↓	↓	↓	↓

Условные обозначения: N – нормальные значения показателей, ↓↑ – ниже или выше нормы.

Больные ХГВ в фазе клинического обострения с нарастанием выраженности патологических изменений в печени отличаются

статистически значимым увеличением содержания тканевых макрофагов и лимфоцитов, умеренным повышением экспрессии Fas на поверхности внутридольковых лимфоцитов, нормальным содержанием FasL-позитивных лимфоцитов внутри печеночных долек, низким уровнем экспрессии bcl-2 на поверхности лимфоцитов и низкой степенью готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу. Возможно, что чрезмерное повышение количества лимфоцитов с высокой функциональной активностью наряду с низким уровнем экспрессии антиапоптозного гена на них приводит к утяжелению процесса с углублением повреждения ткани печени.

Учитывая наличие корреляционной связи ИГА с наличием HBsAg, HBeAg в сыворотке крови и наличием ДНК HBV в ткани печени у больных ХГВ, можно предположить, что возрастающая вирусная активность приводит к активации иммунокомпетентных клеток, продукции ими цитокинов, с последующим привлечением в патологический очаг мигрирующих макрофагов и, в большей мере, циркулирующих лимфоцитов (преимущественно НК и цитотоксических Т-лимфоцитов), приводящих к реализации клеточноопосредованного иммунного повреждения гепатоцитов.

Несколько иные взаимосвязи выявлены при ХГС (Таблица 4.1.12). При нарастании клинической (по активности АлАт в сыворотке крови) и морфологической (по ИГА) тяжести патологического процесса у больных ХГС отмечается нарастание содержания внутрипеченочных лимфоцитов преимущественно за счет CD8-позитивных лимфоцитов и увеличение содержания макрофагов внутри печеночных долек (при увеличении ИГА). Обращает на себя внимание значительное снижение содержания CD4-позитивных лимфоцитов у больных ХГС, не зависящее от степени выраженности повреждения печени. Для ХГС, вне зависимости от выраженности повреждения печени, характерна гиперэкспрессия проапоптозных Fas и FasL на внутридольковых лимфоцитах при стабильном уровне экспрессии на них антиапоптозного bcl-2. При этом, отмечается

снижение показателя потенциальной готовности лимфоцитов к апоптозу (при нарастании повреждения по показателю активности АлАт в сыворотке крови).

Таблица 4.1.12 – Иммуноморфологические особенности различных вариантов течения ХГС

Иммуно-морфологические параметры	Направленность изменений лабораторных показателей					
	NS3HCV (печень), экспрессия более чем в 50% гепатоцитов (+)/ менее чем в 50% гепатоцитов (-)		АлАТ		ИГА	
	+	-	+	-	+	-
Содержание внутрипеченочных лимфоцитов	↑	↑	↑	↑	↑	N
Содержание внутрипеченочных макрофагов	N	N	N	N	↑	↓
Внутрипеченочные CD4 ⁺ -лимфоциты	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Внутрипеченочные CD8 ⁺ -лимфоциты	↑	↑	↑↑	↑	↑↑	↑
Экспрессия Fas на внутрипеченочных лимфоцитах	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑
Экспрессия FasL на внутрипеченочных лимфоцитах	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑
Экспрессия bcl-2 на внутрипеченочных лимфоцитах	N	N	N	N	↓	N
IF/ bcl внутрипеченочных лимфоцитов	↑	N	N	N	↓	↑
IndF внутрипеченочных лимфоцитов	↑↑	↑	↑	↑	N	↑

Условные обозначения: N – нормальные значения показателей, ↓↑ – ниже или выше нормы.

Проведенный сравнительный анализ выраженности и характера клеточной инфильтрации в паренхиме печени, функционального состояния внутридольковых лимфоцитов при ХГС и ХГВ в зависимости от фазы вирусной активности при ХГВ и степени инфицированности гепатоцитов при

ХГС, выраженности цитолитического синдрома, а также от гистологической активности хронического гепатита, показал значительные различия направленности и выраженности изменений указанных показателей в зависимости от этиологии хронического гепатита, что несомненно свидетельствует о различных патогенетических механизмах. Высокая вирусная активность при ХГВ, документируемая выявлением ДНК HBV в ткани печени и серологических маркеров активации вирусного процесса в сыворотке крови, сопровождается увеличением интенсивности внутридольковой лимфоцитарной инфильтрации с нарастанием доли CD8-позитивных лимфоцитов и внутридольковой макрофагальной активности, выражающейся в увеличении площади, занимаемой CD68-позитивными макрофагами. Напротив, такой эффект при ХГС наблюдается при наличии меньшей распространенности инфицирования гепатоцитов в виде низкого содержания в паренхиме печени NS3HCV-позитивных гепатоцитов. Важнейшей патогенетической особенностью ХГС является закономерное постоянное снижение относительного содержания CD4-позитивных лимфоцитов внутри печеночных долек, вплоть до полного их отсутствия по сравнению с группой ХГВ и контрольных показателей – вне зависимости от степени инфицированности гепатоцитов, уровня их повреждения, отражаемого выраженностью цитолитического синдрома и гистологической активности патологического процесса. Сравнение функционального состояния внутридольковых лимфоцитов, оцениваемого по соотношению проапоптозных (Fas, FasL) и противоапоптозного (bcl-2) факторов, экспрессированных на их поверхности, при разнонаправленности экспрессии отдельных факторов, показало тенденцию к более высокой потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу при ХГС, чем при ХГВ. Именно это обстоятельство, по всей видимости, лежит в основе разных клинических проявлений (в виде различной выраженности цитолитического

синдрома) у больных ХГВ и ХГС при сопоставимой гистологической активности хронического гепатита.

4.2 Клинические проявления иммунопатологических механизмов повреждения печени при циррозах печени, ассоциированных с HBV и HCV

В связи с тем, что у 5 больных декомпенсированным ЦПВ и 5 больных ЦПС была выявлена умеренная или высокая степень гистологической активности хронического гепатита, в группу сравнения были включены больные ХГВ и ХГС с сопоставимыми морфологическими изменениями в печени (ИГА ХГ и ЦП соответствовал уровню умеренного и тяжелого - от 9 до 18 баллов по Knodell).

4.2.1 Внутривольковые лимфоциты печени, их субпопуляции и макрофаги у больных циррозом печени В и циррозом печени С

Уровень абсолютного содержания лимфоцитов внутри печеночных долек у больных у больных ЦП (Таблица 4.2.13) был ниже по сравнению с больными ХГ ($37,71 \pm 7,61$ клеток при ХГВ против $12,83 \pm 3,20$ при ЦПВ; $41,18 \pm 4,80$ клетка при ХГС против $31,83 \pm 6,54$ при ЦПС; $p < 0,05$) при одинаковой гистологической активности (ИГА от 9 до 18 баллов по Knodell).

Таблица 4.2.13 – Содержание лимфоцитов в паренхиме печени у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV, при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18 по Knodell)

Обследуемая группа	Число больных		Внутривольковые лимфоциты печени (абс.) M ± m	
	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17	11	$41,18 \pm 4,80^{2,*}$	$37,71 \pm 7,61^{1,*}$
ЦП	5	5	$31,83 \pm 6,54^{2,\#}$	$12,83 \pm 3,20^1$
Контроль	5		$18,63 \pm 0,74$	

Примечание: индексы ^{1, 2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ ($p < 0,05$)

Абсолютное содержание внутридольковых лимфоцитов в печеночной ткани на этиках ХГ и ЦП при HBV-инфекции было ниже, чем при HCV-инфекции, но на этапе ЦП различия достигли статистически значимого предела ($12,83 \pm 3,20$ клеток при ЦПВ и $31,83 \pm 6,54$ при ЦПС, $p < 0,05$).

При анализе относительного содержания CD4-позитивных лимфоцитов в ткани печени было выявлено значительное снижение этого показателя у больных при хронической HCV-инфекции – вплоть до развития относительной CD4-клеточной «лимфопении» внутри печеночных долек на этапе ХГ (Таблица 4.2.14).

Таблица 4.2.14 – Относительное содержание CD4-позитивных лимфоцитов в паренхиме печени у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV, при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18 по Knodell)

Обследуемая группа	Число больных		Внутридольковые CD4-позитивные лимфоциты печени (%) M±m	
	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17	11	$0,11 \pm 0,06^{2,\#}$	$0,95 \pm 0,42^1$
ЦП	5	5	$0,87 \pm 0,57^{2,\#}$	$7,16 \pm 3,27^{1,*}$
Контроль	5		$0,88 \pm 0,73$	

Примечание: индексы ^{1,2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ ($p < 0,05$)

У больных же ХГВ и ЦПВ отмечался более высокий уровень относительного содержания CD4-позитивных лимфоцитов в печеночной ткани ($0,11 \pm 0,06\%$ при ХГС и $0,95 \pm 0,42\%$ при ХГВ, $p < 0,05$; $0,87 \pm 0,57\%$ при ЦПС и $7,16 \pm 3,27\%$ при ЦПВ, $p < 0,05$). Вместе с тем, этот

показатель не отличался от контрольных значений, за исключением ЦПВ, при котором содержание CD4-позитивных лимфоцитов внутри печеночных долек было выше, чем в контрольной группе ($7,16 \pm 3,27\%$ против $0,88 \pm 0,73\%$ соответственно, $p < 0,05$).

Закономерная обратная тенденция была выявлена при изучении относительного содержания CD8-позитивных внутридольковых лимфоцитов. При цирротической стадии хронического гепатита В и С у больных

наблюдалось снижение относительного содержания CD8-позитивных лимфоцитов в ткани печени при сопоставимой гистологической активности патологического процесса (Таблица 4.2.15) по сравнению с больными ХГ (54,17 ± 3,82% при ХГС и 12,86 ± 4,50% при ЦПС, p<0,05; 49,91 ± 9,20% при ХГВ и 31,59 ± 8,89% при ЦПВ, p<0,05).

Таблица 4.2.15 – Содержание CD8-позитивных лимфоцитов в паренхиме печени у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV, при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18 по Knodell)

Обследуемая группа	Число больных		Внутридольковые CD8-позитивные лимфоциты печени (%), M±m	
	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17	11	54,17 ± 3,82 ^{1,*}	49,91 ± 9,20 ^{2,*}
ЦП	5	5	12,86 ± 4,50 ^{1,#,*}	31,59 ± 8,89 ²
Контроль	5		27,20 ± 12,20	

Примечание: индексы ^{1, 2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ (p<0,05)

При этом, если на этапе ХГ относительное содержание CD8-позитивных лимфоцитов в ткани печени не зависело от этиологии гепатита (54,17 ± 3,82% при ХГС и 49,91 ± 9,20% при ХГВ, p>0,05) и существенно превышало контрольные показатели, то на этапе ЦП содержание CD8-позитивных лимфоцитов было значительно выше при HBV-инфекции (12,86 ± 4,50% при ХГС и 31,59 ± 8,89% при ХГВ, p<0,05).

Площадь, занимаемая макрофагами в паренхиме печени при ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой высокой гистологической активности патологического процесса не отличалась от аналогичного показателя в контрольной группе (Таблица 4.2.16), однако больные HCV-инфекцией демонстрировали превышение этого показателя на всех этапах патологического процесса (ХГ и ЦП). Так, площадь, занимаемая CD68-позитивными макрофагами при ХГС составила 5,26 ± 2,59% против 3,24 ± 0,67% при ХГВ (p<0,05); при ЦПС составила 3,84 ± 0,87% против 2,69 ± 0,65% при ЦПВ (p<0,05).

Таблица 4.2.16 – Площадь, занимаемая CD68-позитивными макрофагами в паренхиме печени у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV, при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18 по Knodell)

Обследуемая группа	Число больных		Внутридольковые CD68-позитивные макрофаги печени (% площади), M±m	
	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17	11	5,26 ± 2,59 #	3,24 ± 0,67
ЦП	5	5	3,84 ± 0,87 #	2,69 ± 0,65*
Контроль	5		4,35 ± 1,40	

Примечание: индексы указывают * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ (p<0,05)

Таким образом, сопоставление показателей содержания в ткани печени больных ЦПВ и ЦПС лимфоцитов и их субпопуляций - CD4-позитивных и CD8-позитивных лимфоцитов, а также CD68-позитивных макрофагов с контрольными значениями выявило значительное повышение количества Т-лимфоцитов при ЦПВ (7,16±3,27% против 0,88±0,73% в контроле, p<0,05), Таблица 4.2.14. При сравнении этих же параметров с клеточным составом лимфоцитарной инфильтрации паренхимы печени больных ХГ было отмечено значительно более низкое абсолютное содержание лимфоцитов в ткани печени больных ЦП (12,83±3,2 при ЦПВ и 37,71±7,61 при ХГВ; 31,83 ± 6,54 при ЦПС и 41,18 ± 4,80 при ХГС, p<0,05, Таблица 4.2.18). Снижение содержания абсолютного количества лимфоцитов внутри печеночных долек при ЦПВ сопровождалось увеличением относительного содержания внутрипеченочных CD4-позитивных лимфоцитов (7,16±3,27% против 0,95±0,42% при ХГ, p<0,05, Таблица 4.2.14). Аналогичная тенденция, не достигшая порога статистической значимости, наблюдалась и при ЦПС. При этом, относительное содержание CD4-позитивных лимфоцитов и на этапе ХГ, и на этапе ЦП у больных хронической HCV-инфекцией было существенно ниже, чем у больных хронической HBV-инфекцией (p<0,05).

Выявленное преобладание в цирротически измененной ткани печени Т-хелперов на фоне снижения общего числа лимфоцитов указывает на

возникновение выраженного дисбаланса в местном клеточном иммунном ответе больных декомпенсированным ЦП вне зависимости от этиологии.

Сопоставление уровня содержания лимфоцитов и их субпопуляций в ткани печени с выраженностью повреждения гепатоцитов, в виде активности сывороточной АлАТ у больных ЦП показало, что несмотря на более высокий уровень содержания лимфоцитов в паренхиме печени при HCV- инфекции, относительное содержание CD8-позитивных лимфоцитов внутри печеночных долек у этих больных было значительно ниже аналогичной группы больных ЦПВ, равно как и показатель выраженности цитолитического синдрома (Таблица 4.2.17).

Таблица 4.2.17 – Сравнение уровня содержания лимфоцитов и их субпопуляций в паренхиме печени с выраженностью цитолитического синдрома (по активности сывороточной АлАТ) у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV, при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18 по Knodell)

Обследуемая группа	N С/В	Лимфоциты, печень (абс.) M±m		CD4, печень (%) M±m		CD8, печень (%) M±m		АлАТ (ед./л) M±m	
		С	В	С	В	С	В	С	В
ХГ	17/11	41,18 ± 4,80 ^{*1}	37,71 ± 7,61 ^{2,*}	0,11 ± 0,06 [#]	0,95 ± 0,42 ³	54,17 ± 3,82 ^{*4}	49,91 ± 9,20 ^{*5}	120,94 ± 29,71 ^{#,*,6}	965,2 ± 269,0 ^{1,2,*,7}
ЦП	5/5	31,83 ± 6,54 ^{#,*,1}	12,83 ± 3,20 ²	0,87 ± 0,57 [#]	7,16 ± 3,27 ^{*,3}	12,86 ± 4,50 ^{#,*,4}	31,59 ± 8,89 ⁵	98,00 ± 58,51 ^{#,*,6}	248,4 ± 95,0 ^{*7}
Контроль	5	18,63±0,74		0,88±0,73		27,20±12,20		35,0±3,80	

Примечание: индексы ^{1, 2} указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ (p<0,05)

Повышенное содержание лимфоцитов в ткани печени больных ХГВ и неизменное соотношение их основных субпопуляций согласуется с высокой степенью цитолиза (965,2±269,0 ед./л).

Более низкое, чем у больных ХГВ, содержание лимфоцитов у больных ЦПВ соответствует менее выраженному уровню цитолитического синдрома (248,4±95,0 ед./л).

Вместе с тем, анализ выявленных закономерностей не может объяснить значительно менее выраженный уровень цитолиза у больных ХГС и ЦПС по сравнению с больными ХГВ и ЦПВ при сопоставимой гистологической активности патологического процесса и более высоком уровне содержания CD8-позитивных лимфоцитов в паренхиме печени при ХГС.

4.2.2 Изменения в системе Fas/FasL и экспрессия bcl-2 внутридольковыми лимфоцитами печени при циррозе печени В и циррозе печени С

Несоответствие морфологических изменений, обусловленных высоким содержанием внутридольковых лимфоцитов при ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV различному уровню повреждения гепатоцитов в виде выраженности цитолитического синдрома, отчасти может быть обусловлено функциональным состоянием внутридольковых лимфоцитов, не способных выполнять свою функцию у пациентов, страдающих различными этиологическими и нозологическими формами. Снижение функции цитотоксических лимфоцитов, находящихся в паренхиме печени и способных инициировать апоптоз гепатоцитов, может быть обусловлено изменением соотношения экспрессии проапоптозных и противоапоптозного генов на их поверхности с преобладанием проапоптозных или противоапоптозного факторов, отражающих потенциальную готовность лимфоцитов к апоптозу. Теоретически, высокая потенциальная готовность внутридольковых лимфоцитов к апоптозу приводит к инициации Fas/FasL-опосредованного пути апоптоза лимфоцитов, и к снижению выраженности клеточно-обусловленного апоптоза гепатоцитов. Низкая потенциальная готовность внутридольковых лимфоцитов к апоптозу, обусловленная преобладанием содержания регуляторного противоапоптозного фактора на поверхности лимфоидных клеток, теоретически приводит к снижению

уровня апоптоза лимфоцитов и, соответственно, к возрастанию клеточно-опосредованного повреждения паренхиматозных клеток печени.

Сопоставление уровня экспрессии проапоптозного Fas-рецептора на поверхности внутридольковых лимфоцитов у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV, при одинаковой гистологической активности хронического гепатита, соответствующей умеренному и тяжелому гепатиту, показало более высокий уровень его содержания ($p < 0,05$) на поверхности внутрипеченочных лимфоцитов у больных ХГ (Таблица 4.2.18). У больных ХГС и ЦПС наблюдался достоверно более высокий ($p < 0,05$) уровень экспрессии Fas на поверхности внутридольковых лимфоцитов.

Таблица 4.2.18 – Уровень экспрессии Fas-рецептора (CD95) лимфоцитами паренхимы печени у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18 по Knodell)

Обследуемая группа	Число больных		Fas-позитивные внутридольковые лимфоциты (%), $M \pm m$	
	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17	11	$30,73 \pm 4,68^{1, \#, *}$	$21,89 \pm 4,75^{2, *}$
ЦП	5	5	$14,81 \pm 4,21^{1, \#, *}$	$6,69 \pm 3,62^2$
Контроль	5		$6,93 \pm 3,03$	

Примечание: индексы ^{1,2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ или ЦПВ ($p < 0,05$)

Другие закономерности выявлены при анализе уровня экспрессии проапоптозного FasL внутридольковыми лимфоцитами (Таблица 4.2.19). Больные ЦПС и ЦПВ демонстрировали одинаковый уровень экспрессии FasL внутридольковыми лимфоцитами ($p > 0,05$) при преобладании содержания FasL-позитивных лимфоцитов внутри печеночных долек у больных ХГС по сравнению с больными ХГВ ($p < 0,05$). Вместе с тем, у больных с хронической HBV-инфекцией экспрессия FasL на поверхности внутридольковых лимфоцитов была более выражена при ЦП, в отличие от больных с хронической HCV-инфекцией, при которой этот показатель был значительно ниже у больных ХГ, нежели у больных ЦП ($p < 0,05$).

Таблица 4.2.19 – Уровень экспрессии FasL лимфоцитами паренхимы печени у больных ХГ, ЦП, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9-18 по Knodell)

Обследуемая группа	Число больных		FasL-позитивные внутридольковые лимфоциты (%) M±m	
	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17	11	44,20 ± 4,62 ^{1,*,#}	7,67 ± 2,36 ²
ЦП	5	5	16,33 ± 6,86 ¹	17,07 ± 2,23 ^{2,*}
Контроль	5		9,75 ± 0,79	

Примечание: индексы ^{1,2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ или ЦПВ (p<0,05)

Одинаковый уровень содержания противоапоптозного фактора bcl-2 на поверхности внутридольковых лимфоцитов у больных ХГС и ХГВ, более низкий по сравнению с контрольными показателями (p<0,05), на этапе ЦП оказался в зависимости от этиологии разным и у больных ЦПС был значительно выше, чем у больных ЦПВ (Таблица 4.2.20).

Таблица 4.2.20 – Уровень экспрессии bcl-2 лимфоцитами паренхимы печени у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9-18)

Обследуемая группа	Число больных		bcl-2-позитивные внутридольковые лимфоциты (%) M±m	
	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17	11	13,99 ± 2,35 ^{1,*}	14,62 ± 3,21 ^{2,*}
ЦП	5	5	31,12 ± 7,48 ^{1,#}	8,3 ± 0,76 ^{2,*}
Контроль	5		24,34 ± 3,42	

Примечание: индексы ^{1,2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ или ЦПВ (p<0,05)

Разнонаправленные показатели экспрессии проапоптозных и противоапоптозных факторов на поверхности внутридольковых лимфоцитов демонстрируют различные регуляторные механизмы повреждения гепатоцитов при ЦП в зависимости от этиологии. На этапе ХГ высокий уровень экспрессии Fas и FasL при низком уровне экспрессии bcl-2 на поверхности внутридольковых лимфоцитов у больных ХГС с умеренной и

высокой гистологической активностью хронического гепатита (Таблицы 4.2.18, 4.2.19, 4.2.20) обуславливают высокий показатель IF (FasL/Fas) и Ifbcl, характеризующий высокую потенциальную готовность внутридольковых лимфоцитов к апоптозу. Умеренно высокий уровень экспрессии Fas, низкий уровень экспрессии FasL и bcl-2 на поверхности лимфоцитов в паренхиме печени больных ХГВ с умеренной и высокой гистологической активностью (Таблицы 4.2.18, 4.2.19, 4.2.20) характеризуют значительно более низкие, чем у больных ХГС показатели IF (FasL/Fas) и Ifbcl, свидетельствующие о низкой потенциальной готовности внутрипеченочных лимфоцитов к апоптозу ($0,16 \pm 0,05$ при ХГВ против $0,25 \pm 0,08$ при ХГС, $p < 0,05$). Таким образом, низкая потенциальная готовность внутридольковых лимфоцитов к апоптозу у больных ХГВ, по сравнению с больными ХГС, приводит к более высокому уровню повреждения гепатоцитов при ХГВ (Таблица 4.2.21).

Таблица 4.2.21 – Сопоставление индексов готовности к апоптозу лимфоцитов (IF и Ifbcl) у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9-18) с выраженностью цитолитического синдрома

Обследуемая группа	Число больных		IF (FasL/Fas) M±m		Ifbcl (FasL/Fas/bcl) M±m		АлАТ ед/л M±m	
	HCV	HBV	HCV	HBV	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17	11	$1,93 \pm 0,29$ #	$0,46 \pm 0,14$ ^{1,*}	$0,25 \pm 0,08$ ^{2, #}	$0,16 \pm 0,05$ ³	$120,94 \pm 29,71$ *, #	$965,2 \pm 269,0$ ^{4, *}
ЦП	5	5	$1,50 \pm 0,72$ #	$4,06 \pm 1,68$ ^{1,*}	$0,05 \pm 0,02$ ^{2, *, #}	$5,60 \pm 1,78$ ^{3, *}	$98,00 \pm 58,51$	$248,4 \pm 95,0$ ^{4, *}
Контроль	5		$1,52 \pm 0,55$		$0,23 \pm 0,05$		$35,0 \pm 3,80$	

Примечание: индексы ^{1,2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем; # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ или ЦПВ ($p < 0,05$)

Это подтверждается более высоким уровнем цитолитического синдрома при одинаково высокой гистологической активности гепатита ($965,2 \pm 269,0$ ед./л у больных ХГВ против $248,4 \pm 95,0$ ед./л у больных ХГС, $p < 0,05$) у больных ХГВ.

На этапе декомпенсированного ЦП высокий уровень экспрессии Fas и FasL, очень высокий уровень экспрессии bcl-2 на поверхности

внутридольковых лимфоцитов при ЦПС (Таблицы 4.2.18, 4.2.19, 4.2.20) обуславливает формирование низкого показателя потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу; нормальный уровень экспрессии Fas, высокий уровень экспрессии FasL и крайне низкий уровень экспрессии bcl-2 на поверхности внутридольковых лимфоцитов при ЦПВ (Таблицы 4.2.18, 4.2.19, 4.2.20) формируют высокий уровень потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу (Таблица 4.2.21). Вопреки ожиданиям, низкая потенциальная готовность внутридольковых лимфоцитов к апоптозу при ЦПС не приводит к увеличению цитолитической активности, наблюдаемой при ЦПВ с высокой готовностью лимфоцитов к апоптозу.

Такая особенность обусловлена более низким относительным содержанием цитотоксических лимфоцитов в паренхиме печени у больных ЦПС (Таблица 4.2.22).

Таблица 4.2.22 – Сопоставление уровня относительного содержания CD8-позитивных внутридольковых лимфоцитов, индекса готовности лимфоцитов к апоптозу (Ifbcl) у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9-18) с выраженностью цитолитического синдрома

Обследуемая группа	Число больных		CD8, печень (%) M±m		Ifbcl (FasL/Fas/bcl) M±m		АлАТ ед/л M±m	
	HCV	HBV	HCV	HBV	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17	11	54,17 ± 3,82 ^{1,*}	49,91 ± 9,20 ^{2,*}	0,25±0,08 ^{3,#}	0,16±0,05 ⁴	120,94±29,71 ^{*,#}	965,2±269,0 ^{5,*}
ЦП	5	5	12,86 ± 4,50 ^{1,#,*}	31,59 ± 8,89 ^{2,*}	0,05±0,02 ^{3,*,#}	5,60±1,78 ^{4,*}	98,00±58,51	248,4±95,0 ^{5,*}
Контроль	5		1,52±0,55		27,20±12,20		35,0±3,80	

Примечание: индексы ^{1,2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем; # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ или ЦПВ (p<0,05)

Крайне низкая потенциальная готовность к апоптозу внутрипеченочных лимфоцитов у этих больных, которая теоретически должна была бы сопровождаться увеличением уровня клеточно-опосредованного повреждения гепатоцитов, не приводит к нарастанию повреждения гепатоцитов, что отражается в низком уровне цитолиза у больных ЦПС.

Таким образом, одинаковая гистологическая активность ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV, может реализовываться разной выраженностью цитолитического синдрома, что обусловлено как различными вариантами местного клеточного иммунного ответа, так и функциональным состоянием внутридольковых лимфоцитов, обладающих разной степенью потенциальной готовности к апоптозу.

4.3 Клинические проявления иммунопатологических механизмов повреждения печени при гепатоцеллюлярных карциномах, ассоциированных с HBV и HCV

4.3.1 Лимфоциты, их субпопуляции и макрофаги в паренхиме печени и опухолевой ткани у больных гепатоцеллюлярной карциномой В и гепатоцеллюлярной карциномой С

Анализ среднего содержания лимфоцитов как внутри печеночных долек, так и в опухолевой ткани больных ГЦК показал преобладание этого показателя у больных ГЦКС по сравнению с больными ГЦКВ ($p < 0,05$), Таблица 4.3.23. Вместе с тем, по мере естественного течения хронической HBV- и HCV- инфекции, на всех этапах (ХГ, ЦП, ГЦК) содержание внутридольковых лимфоцитов имело тенденцию к снижению с наименьшим показателем в ткани печени у больных ГЦК при сохраняющейся умеренной или высокой гистологической активности хронического гепатита.

Таблица 4.3.23 – Содержание лимфоцитов в паренхиме печени и опухолевой ткани у больных ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV-инфекцией при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18 по Knodell)

Обследуемая группа	Число больных		Внутридольковые лимфоциты печени (абс.) M ± m	
	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17	11	41,18 ± 4,80 *	37,71 ± 7,61 ^{1,2,*}
ЦП	5	5	31,83 ± 6,54 ^{#,*}	12,83 ± 3,20 ¹
ГЦК (печень)	5	5	26,83 ± 5,50 ^{#,*}	8,37 ± 1,52 ^{2,*}
ГЦК (опухоль)	5	5	26,53 ± 6,73 ^{#,*}	16,47 ± 6,85
Контроль	5		18,63 ± 0,74	

Примечание: индексы ^{1,2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, ЦП или ГЦКВ (p<0,05)

Относительное содержание CD4-позитивных лимфоцитов в паренхиме печени, окружающей опухолевые разрастания у больных ГЦК было значительно выше, чем в интактной печени, а также в печени больных ЦП (Таблица 4.3.24).

Таблица 4.3.24 – Содержание CD4-позитивных лимфоцитов в паренхиме печени и в опухолевой ткани у больных ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18 по Knodell)

Обследуемая группа	Число больных		Внутридольковые CD4-позитивные лимфоциты печени (%), M ± m	
	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17	11	0,11 ± 0,06 ^{#,*}	0,95 ± 0,42 ^{1,2}
ЦП	5	5	0,87 ± 0,57 ^{#,4}	7,16 ± 3,27 ^{*,3}
ГЦК (печень)	5	5	2,62 ± 1,62 ^{#,*,4}	17,64 ± 7,79 ^{*,1,3}
ГЦК (опухоль)	5	5	0,00 ± 0,00 ^{#,*}	23,40 ± 7,13 ^{*,2}
Контроль	5		0,88 ± 0,73	

Примечание: индексы ^{1,2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, ЦП или ГЦКВ (p<0,05)

При этом у больных ЦПВ уровень содержания CD4-позитивных лимфоцитов в паренхиме печени был существенно выше, чем у больных ЦПС (17,64 ± 7,79% у больных ЦПВ против 2,62 ± 1,62% у больных ЦПС, p<0,05). В

опухолевой ткани у больных ЦПС наблюдалось полное отсутствие этой субпопуляции лимфоцитов, тогда как у больных ЦПВ в опухоли было выявлено крайне высокое относительное содержание CD4-позитивных лимфоцитов ($23,40 \pm 7,13\%$). Естественное течение хронической HBV-инфекции характеризовалось нарастанием содержания CD4-позитивных лимфоцитов в паренхиме печени на всех этапах (ХГ, ЦП, ГЦК), достигая максимальных значений в опухолевой ткани при ГЦК.

Паренхима печени у больных ГЦКВ характеризовалась значительно более высоким относительным содержанием цитотоксических лимфоцитов, $p < 0,05$ (Таблица 4.3.25), такая же закономерность была выявлена при анализе относительного содержания CD8-позитивных лимфоцитов внутри ложных печеночных долек у больных ЦП, у больных ЦПВ в паренхиме печени содержалось относительно более чем в 2 раза больше CD8-позитивных лимфоцитов, чем у больных ЦПС. Инфильтрация стромы опухолевой ткани по сравнению с окружающей печеночной тканью была значительно менее выраженной у больных ГЦКВ и такой же у больных ГЦКС ($p > 0,05$).

Таблица 4.3.25 – Содержание CD8-позитивных лимфоцитов в паренхиме печени и в опухолевой ткани у больных ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18 по Knodell)

Обследуемая группа	Число больных		Внутридольковые CD8-позитивные лимфоциты печени (%), $M \pm m$	
	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17	11	$54,17 \pm 3,82$ ^{1,2,3,*}	$49,91 \pm 9,20$ ^{4,5,*}
ЦП	5	5	$12,86 \pm 4,50$ ^{1,#}	$31,59 \pm 8,89$ ⁴
ГЦК (печень)	5	5	$20,47 \pm 4,84$ ^{2,#}	$40,55 \pm 12,21$
ГЦК (опухоль)	5	5	$22,60 \pm 15,59$ ³	$28,80 \pm 7,12$ ⁵
Контроль	5		$27,20 \pm 12,20$	

Примечание: индексы ^{1,2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, ЦП или ГЦКВ ($p < 0,05$)

Средняя площадь, занимаемая CD68-позитивными макрофагами, в паренхиме печени оказалась несколько больше у больных ГЦКС, однако эти

отличия не достигали пределов статистической значимости, $p > 0,05$ (Таблица 4.3.26).

Таблица 4.3.26 – Содержание CD68-позитивных макрофагов в паренхиме печени и опухолевой ткани у больных ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18 по Knodell)

Обследуемая группа	Число больных		Внутридольковые CD68-позитивные макрофаги печени (% площади), $M \pm m$	
	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17	11	$5,26 \pm 2,59^{\#}$	$3,24 \pm 0,67$
ЦП	5	5	$3,84 \pm 0,87^{\#,1}$	$2,69 \pm 0,65$
ГЦК (печень)	5	5	$4,55 \pm 1,84$	$2,96 \pm 0,76$
ГЦК (опухоль)	5	5	$10,85 \pm 6,6^{\#,1}$	$3,11 \pm 0,93$
Контроль	5		$4,35 \pm 1,40$	

Примечание: индексы ^{1,2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем, [#] – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, ЦП или ГЦКВ ($p < 0,05$).

Вместе с тем, в опухолевой ткани у больных ГЦКС CD68-позитивные макрофаги занимали значительно большую площадь, чем у больных ГЦКВ ($p < 0,05$).

Таким образом, паренхима печени у больных ГЦК характеризовалась наименьшим содержанием внутридольковых лимфоцитов по сравнению с ЦП и ХГ, чем, учитывая клеточно-опосредованный механизм иммунного повреждения гепатоцитов, отчасти можно объяснить наименьшую выраженность цитолитического синдрома у этих пациентов (Таблица 4.3.27). Вместе с тем, при более высоком среднем содержании внутридольковых лимфоцитов в паренхиме печени при ГЦКС ($26,83 \pm 5,50$ клеток у больных ГЦКС против $8,37 \pm 1,52$ клеток у больных ГЦКВ, $p < 0,05$), выраженность повреждения гепатоцитов, определяемая по уровню активности АлАт в сыворотке крови, у больных ГЦКС была значительно ниже ($37,67 \pm 9,02$ ед./л у больных ГЦКС против $109,4 \pm 20,30$ ед./л у больных ГЦКВ, $p < 0,05$).

Таблица 4.3.27 – Сопоставление уровня содержания лимфоцитов, их субпопуляций и макрофагов в паренхиме печени с выраженностью цитолитического синдрома (АлАТ) у больных ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18)

Обследуемая группа	N C/B	Лимфоциты (абс.) M±m		CD4 % M±m		CD8 % M±m		CD68 % площади M±m		АлАТ ед./л M±m	
		HCV	HBV	HCV	HBV	HCV	HBV	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17/11	41,18 ± 4,80 *	37,71 ± 7,61 ^{1,2} *	0,11 ± 0,06 ^{#*}	0,95 ± 0,42 ^{1,2}	54,17 ± 3,82 ^{1,2} *	49,91 ± 9,20	5,26±2,5 9 [#]	3,24 ± 0,67	120,94 ± 29,71 ^{1,*} ,#	965,2 ± 269,0 ^{1,2,*}
ЦП	5/5	31,83 ± 6,54 ^{#*}	12,83 ± 3,20 ¹	0,87 ± 0,57 [#]	7,16 ± 3,27 *	12,86 ± 4,50 #,* ¹	31,59 ± 8,89	3,84±0,8 7 [#]	2,69 ± 0,65	98,00 ± 58,51 ^{#,*}	248,4 ± 95,0 ^{1,*}
ГЦК (печень)	5/5	26,83 ± 5,50 ^{#*}	8,37 ± 1,52 ^{2,*}	2,62 ± 2,62 ^{#*}	17,64 ± 7,79 ^{*1}	20,47 ± 4,84 ^{#2}	40,55 ± 12,21	4,55±1,8 4 [#]	2,96 ± 0,76	37,67 ± 9,02 ^{1,#}	109,4 ± 20,30 ^{2,*}
ГЦК (опухоль)	5/5	26,53 ± 6,73 ^{#*}	16,47 ± 6,85	0,00 ± 0,00 ^{#*}	23,40 ± 7,13 ^{2,*}	22,60 ± 15,59	28,80 ± 7,12	10,85±6, 6 ^{#,*}	3,11 ± 0,93	-	-
Контроль	5	18,63±0,74		0,88±0,73		27,20±12,20		4,35±1,40		35,0±3,80	

Примечание: индексы ^{1,2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, ЦП или ГЦКВ (p<0,05).

Объяснение этого несоответствия, отчасти, заключается в разном относительном содержании различных субпопуляций внутридольковых лимфоцитов в паренхиме печени. Среднее относительное содержание цитотоксических лимфоцитов в паренхиме печени, инициирующих повреждение гепатоцитов путем апоптоза у больных ГЦКС было значительно ниже, чем у больных ГЦКВ и соответствовало аналогичному показателю в интактной печени (20,47 ± 4,84% у больных ГЦКС, 40,55 ± 12,21% у больных ГЦКВ, p<0,05 и 27,20±12,20% в контрольной группе).

В опухолевой ткани у больных ГЦКС также наблюдалось более высокое содержание лимфоцитов при полном отсутствии их CD4-позитивной субпопуляции, в отличие от больных ГЦКВ, у которых опухолевая ткань имела крайне высокое содержание CD4-позитивных лимфоцитов (p<0,05)

при одинаковом уровне относительного содержания CD8-позитивных лимфоцитов. Площадь, занимаемая CD68-позитивными макрофагами в ткани печени, окружающей опухолевые разрастания у больных ГЦКС и ГЦКВ была статистически одинаковой, однако, в опухолевой ткани у больных ГЦКС CD68-позитивные макрофаги занимали большую площадь по сравнению с аналогичным показателем у больных ГЦКВ и в контрольной группе ($10,85 \pm 6,6\%$ у больных ГЦКС против $3,11 \pm 0,93\%$ у больных ГЦКВ, $p < 0,05$ и $4,35 \pm 1,40\%$ в интактной печени).

Таким образом, одинаковые морфологические изменения, соответствующие умеренной и высокой гистологической активности хронического гепатита, характерные для цирротически трансформированной печени при ГЦК, сопровождаются схожими клиническими проявлениями, но с более высокой степенью выраженности цитолитического синдрома у больных ГЦКВ.

4.3.2 Изменения в системе Fas/FasL и экспрессия bcl-2 внутридольковыми лимфоцитами печени при гепатоцеллюлярной карциноме В и гепатоцеллюлярной карциноме С

Экспрессия Fas на поверхности внутридольковых лимфоцитов в ткани печени была значительно выше у больных ГЦКВ, чем у больных ГЦКС ($47,3 \pm 17,63\%$ у больных ГЦКВ против $14,79 \pm 7,48\%$ у больных ГЦКС, $p < 0,05$). В строме опухоли содержание Fas-позитивных лимфоцитов было значительно ниже и не отличалось в зависимости от этиологии ($p > 0,05$) с тенденцией к преобладанию у больных ГЦКВ (Таблица 4.3.28).

Таблица 4.3.28 – Экспрессия Fas (CD95) лимфоцитами паренхимы печени и опухолевой ткани у больных ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18 по Knodell)

Обследуемая группа	Число больных		Fas –позитивные лимфоциты (%) M±m	
	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17	11	30,73 ± 4,68 ^{#,1,2,3*}	21,89 ± 4,75 ^{4,5,*}
ЦП	5	5	14,81 ± 4,21 ^{#,1}	6,69 ± 3,62 ⁴
ГЦК (печень)	5	5	14,79 ± 7,48 ^{#,2}	47,3 ± 17,63 ^{5,*}
ГЦК (опухоль)	5	5	3,47 ± 2,51 ^{1,2,3}	8,28 ± 4,65
Контроль	5		6,93 ± 3,03	

Примечание: индексы ^{1,2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, ЦП или ГЦКВ (p<0,05)

Аналогичная тенденция была выявлена при анализе экспрессии FasL на поверхности внутридольковых лимфоцитов (Таблица 4.3.29). Отмечена гиперэкспрессия FasL на поверхности внутридольковых лимфоцитов у больных ГЦКВ (39,44 ± 17,6% в ткани печени против 7,98 ± 2,45% в опухолевой ткани, p<0,05).

Таблица 4.3.29 – Экспрессия FasL лимфоцитами паренхимы печени и опухолевой ткани у больных ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9-18 по Knodell)

Обследуемая группа	Число больных		FasL –позитивные лимфоциты (%) M±m	
	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17	11	44,20 ± 4,62 ^{1,2,3,*,#}	7,67 ± 2,36 ¹
ЦП	5	5	16,33 ± 6,86 ^{1,4}	17,07 ± 2,23 ^{1,*}
ГЦК (печень)	5	5	7,98 ± 2,45 ^{2,5,#}	39,44 ± 17,6
ГЦК (опухоль)	5	5	1,59 ± 1,23 ^{3,4,5,#*}	8,74 ± 3,8
Контроль	5		9,75 ± 0,79	

Примечание: индексы ^{1,2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, ЦП или ГЦКВ (p<0,05)

В опухолевой ткани больных ГЦКВ выявлялось более высокое содержание FasL-позитивных лимфоцитов, соответствующее контрольным

показателям, тогда как у больных ГЦКС наблюдалось значительно более низкий уровень содержания таких лимфоцитов в строме опухоли ($p < 0,05$).

Содержание внутридольковых лимфоцитов, экспрессирующих bcl-2 в паренхиме печени у больных ГЦКС был выше, чем у больных ГЦКВ, $p < 0,05$ (Таблица 4.3.30).

Таблица 4.3.30 – Экспрессия bcl-2 лимфоцитами паренхимы печени и опухолевой ткани у больных ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9-18)

Обследуемая группа	Число больных		bcl-2-позитивные лимфоциты (%) M±m	
	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17	11	13,99 ± 2,35 ^{1, 2, 3, *}	14,62 ± 3,21 ^{6, *}
ЦП	5	5	31,12 ± 7,48 ^{#, 1, 4}	8,3 ± 0,76 ^{6, *}
ГЦК (печень)	5	5	35,90 ± 10,27 ^{2, 5, *}	23,3 ± 14,8
ГЦК (опухоль)	5	5	4,15 ± 3,43 ^{3, 4, 5, *}	10,52 ± 8,74 [*]
Контроль	5		24,34 ± 3,42	

Примечание: индексы ^{1,2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, ЦП или ГЦКВ ($p < 0,05$)

В опухолевой ткани экспрессия этого антигена на поверхности внутридольковых лимфоцитов у больных ГЦКВ была выявлена лишь у 2 больных, и также как у больных ГЦКС была значительно ниже, чем в интактной печени.

У большинства больных ГЦКВ отмечалось резкое снижение экспрессии bcl-2 (вплоть до 0%) в опухолевой ткани, всвязи с чем у них значительно возрос показатель потенциальной готовности лимфоцитов к апоптозу (IFbcl) по сравнению с аналогичным показателем в окружающей печеночной ткани. Представление этих данных в числовом значении невозможно, поскольку у части больных экспрессия гена bcl-2 и/или Fas-рецептора была равна 0. Точное определение значения показателя индекса IFbcl оказалось возможным лишь в одном случае, где показатель потенциальной готовности лимфоцитов к апоптозу IFbcl был равен 9 против 1,58 в окружающей опухоль печеночной ткани у этого же больного (Таблица 4.3.31).

Таблица 4.3.31 – Сопоставление значений индекса готовности к апоптозу внутрипеченочных лимфоцитов (IF и IFbcl) у больных ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV, при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9-18) с выраженностью цитолитического синдрома (АлАТ)

Обследуемая группа	Число больных		IF (FasL/Fas) M±m		Ifbcl (FasL/Fas/bcl) M±m		АлАТ ед./л M±m	
	С	В	HCV	HBV	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17	11	1,93±0,29 #	0,46±0,14 ¹	0,25±0,08 ¹	0,16±0,05 ¹	120,94±29,71 ^{1,2,*,#}	965,2±269,0 ^{1,2,*}
ЦП	5	5	1,50±0,72	4,06±1,68 ¹ (n=4)	0,05±0,02 ^{1,*,#}	5,60±1,78 ^{1,2,*}	98,00±58,51	248,4±95,0 ^{1,*}
ГЦК (печень)	5	5	1,94±1,04 [#]	0,69±0,19	0,09±0,06 [#]	0,68±0,37 ² (n=4)	37,67±9,02 ^{1,#}	109,4±20,3 ^{2,*}
ГЦК (опухоль)	5	5	0,78±0,65 (n=2)	1,36±1,05 (n=3)	1,13±1,13 (n=2)	9 (n=1)	-	-
Контроль	5		1,52±0,55		0,23±0,05		35,0±3,80	

Примечание: индексы ^{1,2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, ЦП или ГЦКВ (p<0,05)

С учетом таких закономерностей при низкой экспрессии Fas и bcl-2 на поверхности тканевых лимфоцитов, можно предполагать крайне высокую степень потенциальной готовности лимфоцитов в опухолевой ткани больных ГЦКВ к апоптозу.

Несмотря на технические сложности вычисления индекса потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу, обусловленные отсутствием экспрессии важнейших про- или противоапоптозного факторов на их поверхности в ткани печени и в опухоли у части больных ГЦКВ и ГЦКС, препятствующие получению статистически значимых результатов, очевидна тенденция к наличию крайне низкой потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов в ткани печени больных ГЦКС при высокой готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу у больных ГЦКВ. Вместе с тем, такая тенденция не приводит к снижению выраженности повреждения гепатоцитов у больных ГЦКВ, отражающейся в более высоком по сравнению с больными ГЦКС уровне активности АлАт в сыворотке крови,

что, по всей видимости, обусловлено более высоким относительным содержанием CD8-позитивных лимфоцитов в паренхиме печени (Таблица 4.3.27). Для опухолевой ткани больных ГЦКВ и ГЦКС характерна высокая степень потенциальной готовности тканевых лимфоцитов к апоптозу, что характеризует низкий уровень клеточного иммунного противоопухолевого иммунитета.

У больных ГЦКВ относительно высокая потенциальная готовность внутридольковых лимфоцитов к апоптозу влекла за собой снижение их функциональной состоятельности, но, учитывая значительно более высокий уровень относительного содержания CD8-позитивных лимфоцитов в паренхиме (Таблица 4.3.27), не приводила к снижению выраженности клеточно-опосредованного повреждения, проявляющегося в сохранении цитолитического синдрома. Больные же ГЦКС со значительно более низким показателем потенциальной готовности лимфоцитов к апоптозу ($0,68 \pm 0,37$ у больных ГЦКВ против $0,09 \pm 0,06$ у больных ГЦКС, $p < 0,05$), но значительно меньшим относительным содержанием цитотоксических лимфоцитов в паренхиме печени (Таблица 4.3.27), характеризовались меньшей степенью повреждения гепатоцитов, проявляющейся в значительно менее выраженном цитолитическом синдроме. Потенциальная готовность к апоптозу лимфоцитов, расположенных в опухолевой ткани, учитывая крайне низкий уровень экспрессии bcl-2 на их поверхности, по всей видимости, является высокой, что может объяснить несостоятельность клеточной противоопухолевой защиты и прогрессирование опухолевого роста.

Естественное течение хронической HCV- и HBV-инфекции, обусловленное персистенцией гепатотропных вирусов, реализуется посредством постоянного повреждения гепатоцитов преимущественно клеточно-опосредованным путем. Каждый из этапов естественного течения хронической HCV- и HBV-инфекции характеризуется разной морфологической картиной, определяемой различными патогенетическими

механизмами, общим важнейшим из которых является иммунное воспаление с сохраняющимся клеточно-опосредованным повреждением гепатоцитов. Различный патогенез хронической HBV-и HCV-инфекции иллюстрируется различным относительным содержанием субпопуляций лимфоцитов в паренхиме печени, в частности, для всех этапов хронической HCV-инфекции характерна внутридольковая CD4-клеточная «лимфопения», свидетельствующая о выраженных нарушениях местного клеточного иммунного ответа.

На этапе ХГ в паренхиме печени наблюдается наибольшее содержание внутридольковых лимфоцитов, в том числе CD8-позитивных лимфоцитов, принимающих непосредственное участие в иммуноопосредованном повреждении гепатоцитов. Возрастание внутридольковой клеточной лимфоцитарной инфильтрации на этапе ХГ сопровождается повышением показателей цитолитического синдрома, свидетельствующим о нарастании уровня повреждения гепатоцитов.

Несоответствие схожих морфологических изменений, отражаемых индексом гистологической активности, уровню выраженности цитолитического синдрома с учетом разной частоты встречаемости гиперферментемии у больных ХГВ и ХГС обусловлено различным функциональным состоянием внутридольковых лимфоцитов в паренхиме печени, экспрессирующих проапоптозные и противоапоптозные факторы, соотношение которых отражает потенциальную готовность самих внутридольковых лимфоцитов к апоптозу. То есть регуляция клеточно-опосредованного повреждения гепатоцитов осуществляется в том числе и посредством изменения функционального состояния элементов клеточного звена иммунитета. Сопоставимая гистологическая активность, определяемая в том числе и по степени выраженности внутридольковой лимфоцитарной инфильтрации, при ЦП и ГЦК не приводит к развитию цитолитического синдрома той степени выраженности, которая характерна для ХГ с такой же

гистологической активностью. Это обусловлено функциональным состоянием внутридольковых лимфоцитов, имеющих более высокую степень потенциальной готовности к апоптозу, и, соответственно, меньшую степень вероятности реализации механизма клеточно-опосредованного повреждения гепатоцитов. Таким образом, морфологическая картина патологических изменений может не соответствовать истинной выраженности повреждения гепатоцитов, что обусловлено функциональными особенностями внутридольковых лимфоцитов в зависимости от этиологии и этапа естественного течения хронической HBV-и HCV-инфекции.

ГЛАВА 5 ХАРАКТЕРИСТИКА РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ И ЕЕ КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ, ЦИРРОЗЕ И ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОЙ КАРЦИНОМЕ, АССОЦИИРОВАННЫХ С HBV И HCV

Наряду с факторами иммуноопосредованного повреждения гепатоцитов в настоящей главе рассматривается характер их регенерации. Соотношение повреждения и регенераторной пролиферации гепатоцитов, составляющих сущность ХГ и ЦП, определяет функциональное состояние печени в ходе естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции. Выраженность патологической пролиферации, характерной для формирования и прогрессии неоплазий, отражает опухолевый потенциал ГЦК, от которого зависит продолжительность жизни больных.

5.1 Клиническое значение пролиферативной активности гепатоцитов и синусоидных клеток печени при хроническом гепатите В и хроническом гепатите С

Пролиферация, как компенсаторный процесс позволяет в условиях нормы поддерживать гомеостаз при естественном обновлении клеток. В условиях патологии пролиферация, имеющая сложные механизмы регуляции, направлена на регенерацию поврежденной ткани и поддержание ее функциональной состоятельности. Нами проведена сравнительная оценка пролиферативной активности паренхимы печени (гепатоцитов) и одного из элементов ее стромы (синусоидных клеток) в условиях возрастающего повреждения, обусловленного естественным течением ХГС и ХГВ.

Анализ полученных данных показал, что для больных ХГВ и ХГС была характерна более высокая пролиферативная активность как гепатоцитов, так и синусоидных клеток по сравнению с интактной печенью ($p < 0,05$). При

этом средние показатели пролиферативной активности гепатоцитов и синусоидных клеток были одинаковыми и не отличались у больных ХГВ и ХГС ($3,57 \pm 0,87\%$ и $4,74 \pm 1,11\%$, при ХГВ, $p > 0,05$; $3,38 \pm 0,39$ и $4,15 \pm 0,51$ при ХГС, $p > 0,05$), Таблица 5.1.1. Характерно, что в здоровой печени при низком показателе пролиферативной активности паренхиматозных клеток (гепатоцитов) полностью отсутствовала пролиферация клеток стромы (синусоидных клеток).

Таблица 5.1.1 – Пролиферативная активность гепатоцитов и синусоидных клеток в перипортальных и центрлобулярных отделах печеночных долек у больных ХГВ и ХГС

Обследуемая группа	n	Ki-67, % позитивных клеток печени:	
		гепатоцитов	синусоидных
ХГС	29	$3,38 \pm 0,39^*$	$4,15 \pm 0,51^*$
ХГВ	29	$3,57 \pm 0,87^*$	$4,74 \pm 1,11^*$
контроль	5	$1,14 \pm 0,57$	$0,0 \pm 0,0$

Примечание: * – различия с контролем значимы при $p < 0,05$

Выраженность пролиферации паренхиматозных и стромальных клеток паренхимы печени находилась в определенной зависимости от фазы биологического цикла вируса, клинической и морфологической активности патологического процесса.

Наибольшая пролиферативная активность гепатоцитов и синусоидных клеток (от $5,27 \pm 1,33\%$ до $14,65 \pm 5,67\%$) отмечалось у больных с наличием в крови и ткани печени маркеров репликации HBV – HBsAg, HBcorAbIgM и выявлением ДНК HBV в печеночной ткани ($p < 0,05$), Таблица 5.1.2. Пролиферативная активность гепатоцитов и синусоидных клеток у пациентов, не имеющих в крови антигенов HBV колебалась от $0,9 \pm 0,34\%$ до $2,67 \pm 0,67\%$ и была значительно ниже, чем у пациентов с персистенцией вируса ($p < 0,05$). При этом содержание Ki-67-позитивных гепатоцитов в печени HBsAg- и HBcAb-негативных больных, а также пациентов с отсутствием ДНК HBV в ткани печени практически не отличалось от показателей пролиферативной активности гепатоцитов в контрольной группе ($1,14 \pm 0,57\%$). Наличие

нерепликативной фазы ХГВ, документируемое наличием HBeAb в сыворотке крови, сопровождается отчетливым снижением пролиферативной активности гепатоцитов ($p < 0,05$) и синусоидных клеток ($p < 0,05$).

Таблица 5.1.2 – Взаимосвязь пролиферативной активности гепатоцитов и синусоидных клеток с вирусной активностью у больных ХГВ

Параметры	Наличие параметра	Число больных	Пролиферативная активность клеток: % (M±m)	
			гепатоцитов	синусоидных
HBsAg	-	9	0,92±0,37 ¹	2,61±0,72 ^{6,*}
	+	17	5,29±1,32 ^{1,*}	6,40±1,77 ^{6,*}
HBcorAb IgM	-	6	1,54±0,59 ²	1,22±0,76 ^{7,*}
	+	4	12,44±2,25 ^{2,*}	14,65±5,67 ^{7,*}
HBeAg	-	5	4,9±2,01 ³	5,43±1,41 ^{8,*}
	+	4	10,9±3,13 ^{3,*}	10,7±2,13 ^{8,*}
HBeAb	-	5	8,05±3,36 ⁴	10,80±4,95 ^{9,*}
	+	14	2,11±0,74 ⁴	3,22±0,76 ^{9,*}
ДНК HBV печени	-	10	0,9±0,34 ⁵	2,67±0,67 ^{10,*}
	+	17	5,27±1,33 ^{5,*}	6,41±1,76 ^{10,*}
Контроль		5	1,14±0,57	0,0±0,0

Примечание: индексы ^{1, 2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – указывает на статистически значимые различия с контролем, ($p < 0,05$)

Таким образом, статистически значимое повышение пролиферативной активности гепатоцитов и синусоидных клеток у больных ХГВ было связано с репликативной активностью HBV.

Количественное определение инфицированных HCV гепатоцитов, экспрессирующих неструктурный белок NS3 вируса гепатита С, и выявление взаимосвязи с пролиферативной активностью гепатоцитов при различной активности ХГС показало, что наибольшее количество NS3HCV-позитивных гепатоцитов встречалось у больных с низкой гистологической активностью патологического процесса и низкой пролиферативной активностью гепатоцитов (Таблица 5.1.3). По мере увеличения тяжести морфологических изменений и возрастания индекса пролиферации гепатоцитов число NS3HCV-позитивных гепатоцитов снижалось (66,04±10,37% при ИГА 1-3 балла и 42,85±12,27% при ИГА 13-18 баллов, $p < 0,05$).

Таблица 5.1.3 – Взаимосвязь выраженности пролиферативной активности гепатоцитов и экспрессии NS3HCV в гепатоцитах с тяжестью патологического процесса (ИГА по Knodell) у больных ХГС

ИГА, баллы (активность)	n	% позитивных гепатоцитов (M±m)	
		Ki67	NS3HCV
1–3 (минимальная)	4	1,43±0,25 ^{1, 2, 3}	66,04±10,37 ⁴
4–8 (слабая)	8	2,85±0,91	51,46±13,34
9–12 (умеренная)	11	3,70±0,41 ^{1, *}	59,01±16,18
13–18 (высокая)	6	4,80±0,96 ^{2, *}	42,85±12,27 ⁴
9–18 (умеренная и высокая)	17	4,09±0,43 ^{3, *}	52,35±16,46
Контроль	5	1,14±0,57	-

Примечание: индексы ^{1, 2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами, * – на статистически значимые различия с контролем (p<0,05)

По мере нарастания клинических признаков выраженности повреждения пролиферативная активность гепатоцитов у больных ХГВ и ХГС значительно нарастала – от 1,23±0,36% при низкой активности до 10,60±3,72% при высокой активности АлАТ (p<0,05) у больных ХГВ; от 2,53±0,84 % при низком показателе цитолиза до 4,76±0,64% при высоких показателях активности сывороточной АлАт (p<0,05) у больных ХГС (Таблица 5.1.4).

Таблица 5.1.4 – Взаимосвязь пролиферативной активности гепатоцитов и синусоидных клеток печени с выраженностью цитолитического синдрома (по активности сывороточной АлАТ) у больных ХГВ и ХГС

АлАТ, ед./л	ХГ	n	Ki-67,% позитивных клеток: M±m	
			гепатоцитов	синусоидных
< 40	С	7	2,53±0,84 ¹	3,31±1,37*
40–100		10	3,26±0,54 ^{2, *}	4,42±0,52*
> 100		9	4,76±0,64 ^{1, 2, *, #}	5,37±0,92*
< 40	В	14	1,23±0,36 ¹	2,84±0,58 ^{1,*}
40–100		5	2,0±0,77 ²	3,65±1,29*
> 100		7	10,14±2,04 ^{1, 2, *}	10,60±3,72 ^{1,*}
контроль		5	1,14±0,57	0,0±0,0

Примечание: индексы ^{1, 2} указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами, * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ (p<0,05)

Индекс пролиферации гепатоцитов при низком и умеренном цитолизе у больных ХГС был выше, чем у больных ХГВ ($p < 0,05$). При высоком уровне ферментемии (АлАт) напротив, пролиферативная активность гепатоцитов у больных ХГВ была значительно выше, чем у больных ХГС ($10,14 \pm 2,04\%$ и $4,76 \pm 0,64\%$ соответственно, $p < 0,05$).

Аналогичные тенденции были выявлены при сопоставлении пролиферативной активности паренхиматозных и стромальных клеток печени с гистологической активностью ХГ (Таблица 5.1.5).

Таблица 5.1.5 – Взаимосвязь пролиферативной активности гепатоцитов и синусоидных клеток печени у больных ХГВ и ХГС с тяжестью патологического процесса (ИГА по Knodell)

ИГА, баллы (активность)	ХГ	n	Ki-67, % позитивных ядер клеток ($M \pm m$)	
			гепатоцитов	синусоидных
1–3 (минимальная)	С	4	$1,43 \pm 0,25$ ^{1, 2, 3, #}	$2,50 \pm 1,04$ ^{1, 2, 3, *}
4–8 (слабая)		8	$2,85 \pm 0,91$	$3,95 \pm 0,90$ ^{*, #}
9–12 (умеренная)		11	$3,70 \pm 0,41$ ^{1, *}	$4,63 \pm 0,99$ ^{1, *}
13–18 (высокая)		6	$4,80 \pm 0,96$ ^{2, *}	$4,63 \pm 0,98$ ^{2, *}
9–18		17	$4,09 \pm 0,43$ ^{3, *, #}	$4,63 \pm 0,71$ ^{3, *, #}
1–3 (минимальная)	В	11	$0,77 \pm 0,19$ ^{1, 2}	$3,34 \pm 0,64$ ^{1, *}
4–8 (слабая)		7	$1,71 \pm 0,56$ ^{3, 4}	$2,27 \pm 1,06$ ^{1, 2, 3, 4, *}
9–12 (умеренная)		5	$7,0 \pm 3,29$ [*]	$9,2 \pm 5,42$ ^{2, *}
13–18 (высокая)		6	$8,0 \pm 1,77$ ^{1, 3, *}	$6,48 \pm 2,18$ ^{3, *}
9–18		11	$7,55 \pm 1,69$ ^{2, 4, *}	$7,72 \pm 2,61$ ^{4, *, #}
Контроль		5	$1,14 \pm 0,57$	$0,0 \pm 0,0$

Примечание: индексы ^{1, 2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами, * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с ХГВ ($p < 0,05$)

Пролиферативная активность гепатоцитов у больных с минимальной гистологической активностью (ИГА от 1 до 3 баллов) не отличалась от контрольных показателей (соответственно $0,77 \pm 0,19\%$ при ХГВ, $1,43 \pm 0,25\%$ при ХГС и $1,14 \pm 0,57\%$ в контрольной группе, $p > 0,05$). Наряду с этим, пролиферация синусоидных клеток, не характерная для интактной печени, была выражена уже при минимальной гистологической активности

хронического гепатита ($3,34 \pm 0,64\%$ при ХГВ и $2,50 \pm 1,04\%$ против $0,0 \pm 0,0\%$, $p < 0,05$). При этом, у больных ХГВ процент пролиферирующих синусоидных клеток значительно превышал количество пролиферирующих гепатоцитов (соответственно $3,34 \pm 0,64\%$ и $0,77 \pm 0,19\%$, $p < 0,05$). При нарастании гистологической активности эти различия нивелировались и пролиферативная активность гепатоцитов и синусоидных клеток в одинаковой мере повышалась по мере увеличения ИГА (Рисунок 7).

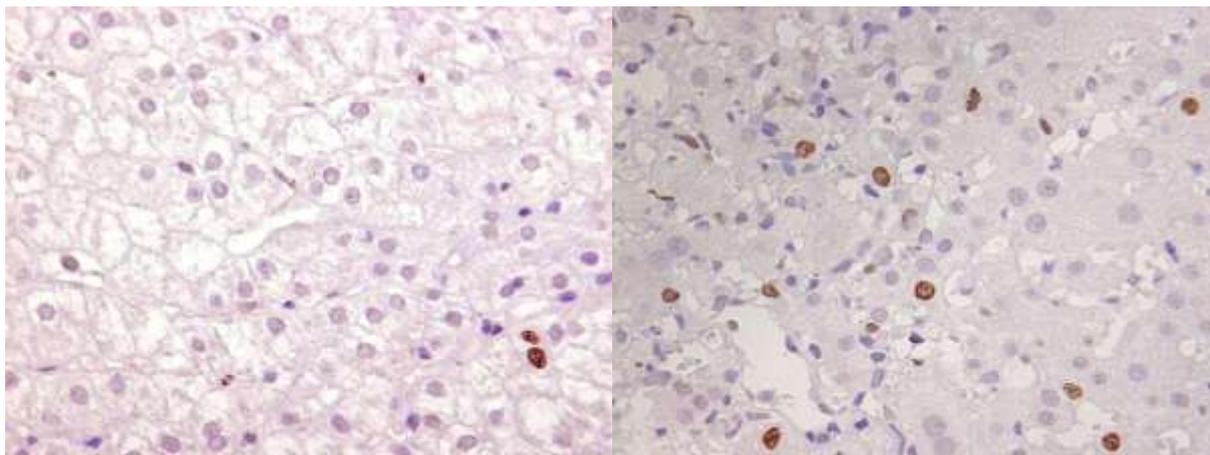


Рисунок 7 – Экспрессия KI-67 в ядрах гепатоцитов и синусоидных клеток (биоптаты печени больных ХГВ с низкой, ИГА по Knodell = 3 балла (слева) и высокой, ИГА по Knodell = 14 баллов (справа) гистологической активностью. ИГХ метод, DAB, $\times 400$

Пролиферация гепатоцитов, низкая при минимальной гистологической активности, возрастала у больных ХГВ и ХГС с высокой степенью гистологической активности (от $0,77 \pm 0,19\%$ до $8,0 \pm 1,77\%$ при ХГВ и от $1,43 \pm 0,25\%$ до $4,80 \pm 0,96\%$ при ХГС; $p < 0,05$).

Те же тенденции, не достигнув принятых пределов статистической значимости, наблюдались и в изменении пролиферативной активности синусоидных клеток в зависимости от тяжести морфологических изменений (от $3,34 \pm 0,64\%$ при ИГА 1–3 балла до $6,48 \pm 2,18\%$ у больных с ИГА 13–18 баллов; $p > 0,05$ в группе больных ХГВ; от $2,50 \pm 1,04\%$ при ИГА 1–3 балла до $4,63 \pm 0,98\%$ у пациентов с ИГА 13–18 баллов; $p > 0,05$ в группе больных ХГС).

Изменения, выявленные при изучении пролиферативной активности паренхиматозных и непаренхиматозных клеток печени у больных ХГВ и ХГС, нашли подтверждение при проведении корреляционного анализа (Рисунок 8 и 9).

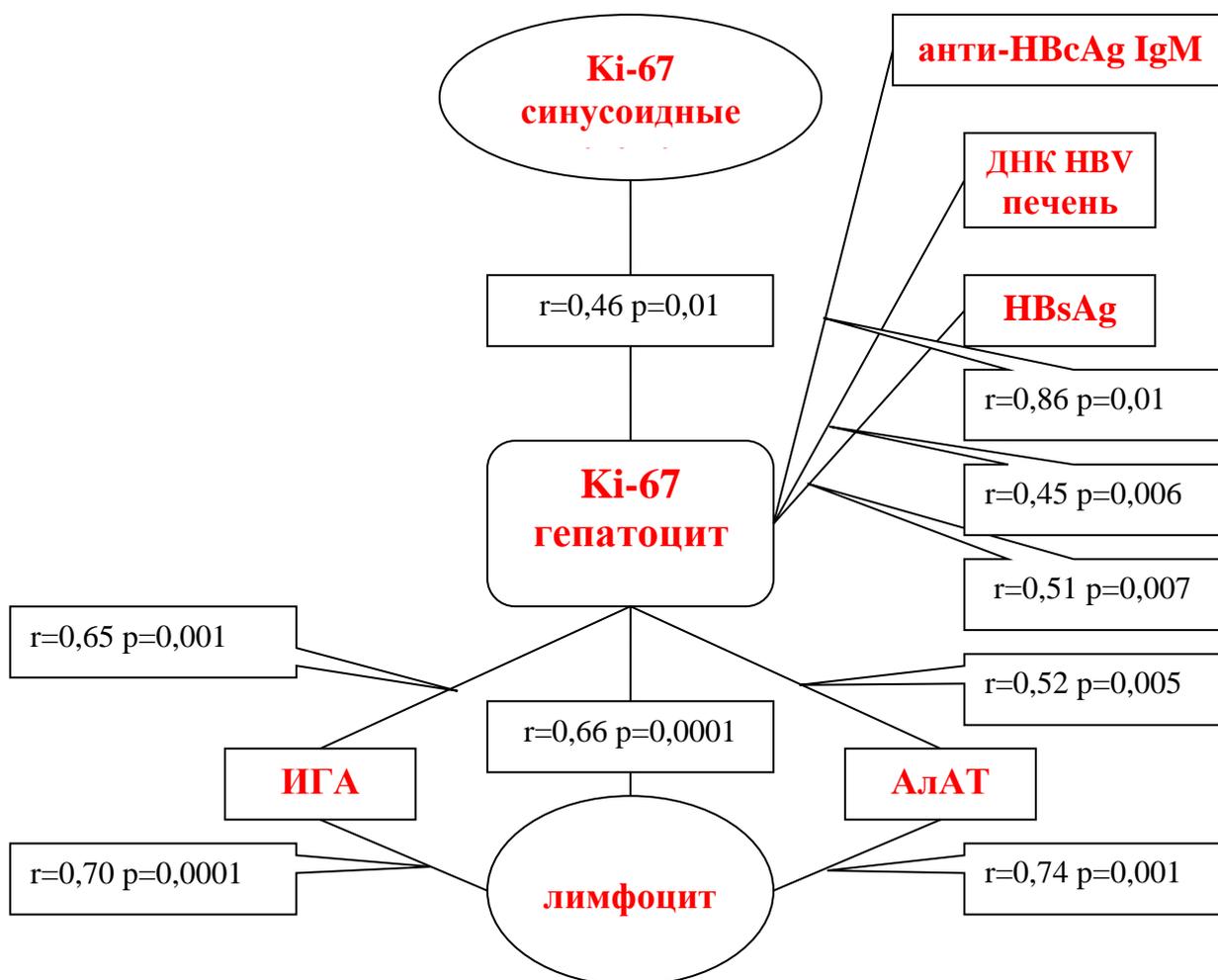


Рисунок 8 – Корреляционные зависимости, характеризующие регенераторную пролиферацию гепатоцитов при ХГВ.

Показано наличие корреляционной зависимости между пролиферативной активностью гепатоцитов и синусоидных клеток ($r=0,46$ при ХГВ, $r=0,69$ при ХГС). Выявлена положительная корреляционная связь между пролиферативной активностью гепатоцитов и выраженностью клинической (АлАТ) и морфологической активности (ИГА) патологического процесса

($r=0,52$ и $r=0,65$ соответственно при ХГВ, $r=0,4$ и $r=0,45$ соответственно при ХГС). Установлена прямая корреляционная связь пролиферативной активности гепатоцитов с вирусной активностью у больных ХГВ (наличие ДНК HBV в ткани печени, HBsAg и HBcAb IgM в сыворотке крови), $r=0,45$; $0,51$; $0,86$ соответственно. В отличие от ХГВ, при ХГС выраженность экспрессии NS3HCV в гепатоцитах не влияет на изменение пролиферативной активности гепатоцитов ($r=-0,19$), тогда как выявление РНК HCV в сыворотке крови имело умеренную прямую корреляционную зависимость с пролиферацией гепатоцитов.

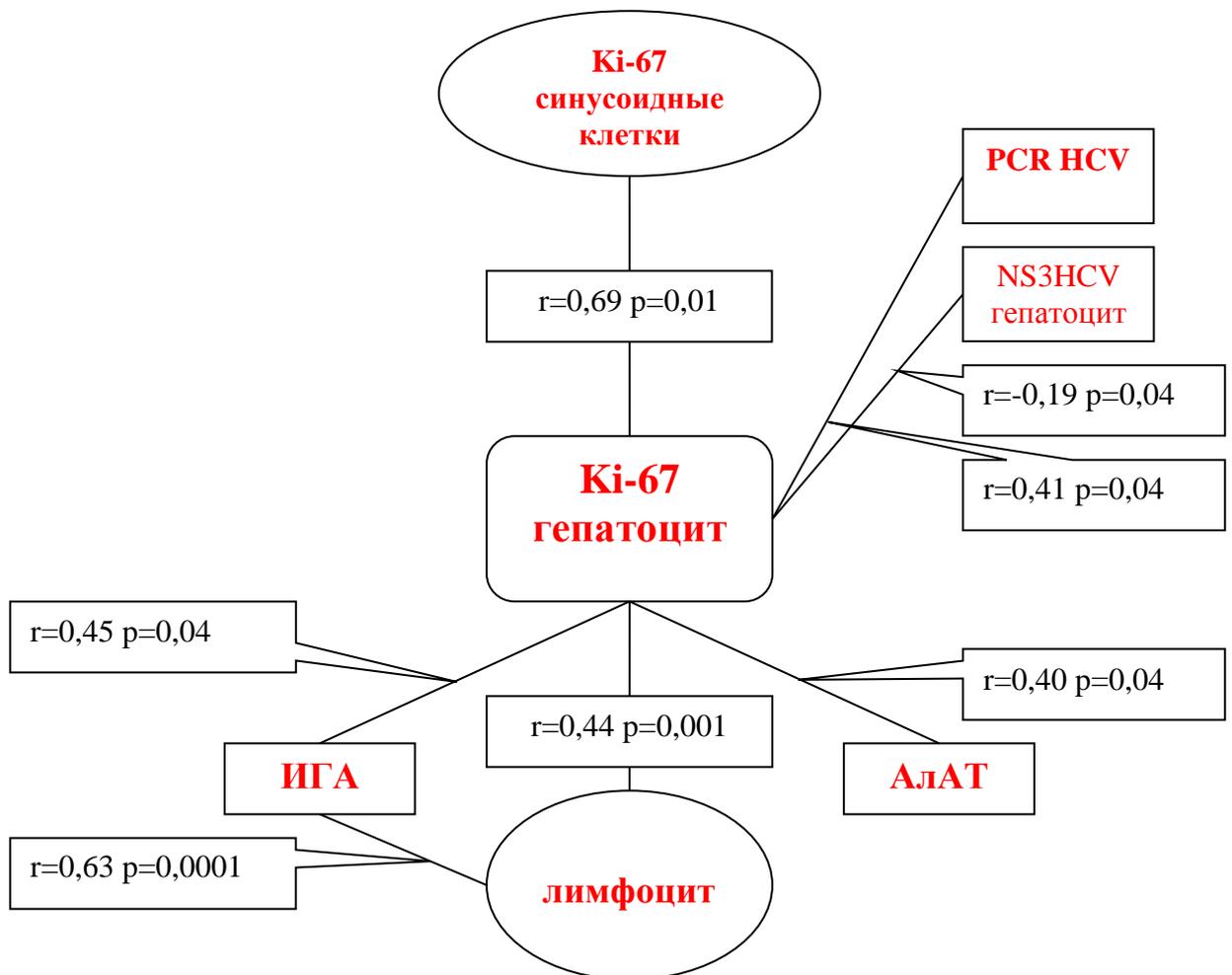


Рисунок 9 – Корреляционные зависимости, характеризующие регенераторную пролиферацию гепатоцитов при ХГС.

Слабый или умеренный характер корреляционных зависимостей показателя пролиферации гепатоцитов от факторов повреждения, влекущих за собой регенерацию паренхиматозных клеток печени, по всей видимости, обусловлен многосложностью протекающих патологических процессов.

Таким образом, к увеличению регенераторной пролиферации гепатоцитов, обеспечивающей сохранение функции органа в условиях естественного течения хронической HBV-и HCV-инфекции на этапе ХГ, приводит увеличение уровня повреждения гепатоцитов, выражающегося в нарастании клинической (по нарастанию активности сывороточной АлАт при хронической HBV-инфекции) и морфологической (по нарастанию ИГА) активности патологического процесса в условиях нарастания вирусной активности, особенно при хронической HBV-инфекции. Регенераторная пролиферация гепатоцитов в условиях нарастающего повреждения, сопровождается пролиферативными изменениями непаренхиматозных клеток печени, принимающих участие в процессах фиброгенеза.

5.2 Клиническое значение пролиферативной активности гепатоцитов и синусоидных клеток печени при циррозе печени В и циррозе печени С

Уровень пролиферативной активности гепатоцитов при декомпенсированном ЦП, как видно из Таблицы 5.2.6, несмотря на выраженное повреждение (ИГА по Knodell от 9 до 18 баллов), при ЦПВ не превышал аналогичный показатель в интактной печени, а при ЦПС он был существенно ниже по сравнению с этим показателем в группе больных ЦПВ и в контрольной группе ($1,13 \pm 0,58\%$ при ЦПВ, $0,39 \pm 0,24\%$ при ЦПС $p < 0,05$ и $1,14 \pm 0,57\%$ в контрольной группе, $p < 0,05$).

Таблица 5.2.6 – Проллиферативная активность гепатоцитов и синусоидных клеток у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18)

Обследуемая группа	n C/B	Индекс пролиферативной активности (%):			
		гепатоцитов		синусоидных клеток	
		HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17/11	4,09±0,43 ^{1,*,#}	7,55±1,69 ^{2,*}	4,63 ± 0,71 ^{3,*,#}	7,72 ± 2,61 ^{4,*}
ЦП	5/5	0,39±0,24 ^{1,*,#}	1,13±0,58 ²	0,00 ± 0,00 ^{3,#}	4,13 ± 1,20 ^{4,*}
Контроль	5	1,14±0,57		0,00 ± 0,00	

Примечание: индексы ^{1, 2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами, * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ и ЦПВ (p<0,05)

Низкая регенераторная способность паренхимы печени в условиях сохраняющегося повреждения при декомпенсированном ЦП являлась причиной нарастания печеночной недостаточности при прогрессирующем повреждении паренхимы печени. Характерно, что при ХГ с такой же гистологической активностью (ИГА по Knodell от 9 до 18 баллов) пролиферативная активность гепатоцитов была значительно выше и у больных ХГВ и у больных ХГС. И на этапе ХГ и на этапе ЦП более высокая пролиферативная активность гепатоцитов была характерна для HBV-инфекции (Таблица 5.2.6). Синусоидные клетки печени, в условиях нормы не обладающие пролиферативной активностью, при хронической HBV-инфекции на этапах ХГ и ЦП показывали значительно более высокую активность пролиферации, чем при хронической HCV-инфекции, а декомпенсированный ЦПС характеризовался полным отсутствием пролиферации синусоидных клеток.

Высокие показатели пролиферативной активности гепатоцитов у больных ХГ в условиях текущего клеточно-опосредованного повреждения паренхимы были обусловлены гибелью гепатоцитов, сопровождающейся повышением активности сывороточной АлАт. Однако, механизмы клеточно-опосредованного повреждения паренхимы печени у больных ХГВ и ХГС значительно отличаются несмотря на схожие клинико-морфологические

проявления в виде наличия цитолитического синдрома и внутридольковой лимфоцитарной инфильтрации. У больных ХГВ с умеренной и высокой гистологической активностью низкая готовность внутридольковых лимфоцитов к апоптозу приводила к нарастанию клеточно-опосредованного повреждения, значительному нарастанию уровня активности сывороточной АлАт и значительному увеличению регенераторной пролиферации гепатоцитов. У больных ХГС с аналогичной тяжестью гистологической активности, с более низкими значениями показателя потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу, наблюдалось умеренно выраженное клеточно-опосредованное повреждение гепатоцитов, выражающееся в умеренном цитолитическом синдроме и значительно менее выраженном показателе пролиферативной активности гепатоцитов ($4,09 \pm 0,43\%$ у больных ХГС против $7,55 \pm 1,69\%$ у больных ХГВ, $p < 0,05$) (Таблица 5.2.7).

Таблица 5.2.7 – Сопоставление индекса пролиферативной активности гепатоцитов индексу готовности к апоптозу лимфоцитов (Ifbcl) и выраженности цитолитического синдрома (по активности сывороточной АлАТ) у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9-18)

Обследуемая группа	Число больных		Индекс пролиферативной активности гепатоцитов, %, $M \pm m$		Ifbcl (FasL/Fas/bcl) $M \pm m$		АлАТ, ед./л, $M \pm m$	
	HCV	HBV	HCV	HBV	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17	11	$4,09 \pm 0,43$ 1, *, #	$7,55 \pm 1,69$ 2, *	$0,25 \pm 0,08$ 3, #	$0,16 \pm 0,05$ 4	$120,94 \pm 29,71$ *, #	$965,2 \pm 269,0$ ^{5,*}
ЦП	5	5	$0,39 \pm 0,24$ 1, *, #	$1,13 \pm 0,58$ 2	$0,05 \pm 0,02$ 3, *, #	$5,60 \pm 1,78$ 4, *	$98,00 \pm 58,51$ *, #	$248,4 \pm 95,0$ ^{5,*}
контроль	5		$1,14 \pm 0,57$		$0,23 \pm 0,05$		$35,0 \pm 3,80$	

Примечание: индексы ^{1,2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем; # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ и ЦПВ ($p < 0,05$)

Низкий показатель пролиферативной активности гепатоцитов, отражающий выраженность регенераторной пролиферации паренхимы печени в условиях сохраняющейся умеренной или высокой гистологической

активности процесса у больных с декомпенсированным ЦП и схожей морфологической картиной, в зависимости от этиологии показывает различную степень разрегулирования механизмов клеточно-опосредованного повреждения. У больных ЦПВ высокая готовность внутридольковых лимфоцитов к апоптозу влечет за собой снижение их функциональной активности и уменьшение выраженности клеточно-опосредованного повреждения, что отражается в сокращении цитолитической активности (по сравнению с больными ХГВ) с падением пролиферативной активности гепатоцитов при сохраняющейся высокой гистологической активности. Низкая потенциальная готовность внутридольковых лимфоцитов к апоптозу у больных ЦПС, которая должна была бы привести к возрастанию клеточно-опосредованного повреждения и нарастанию выраженности цитолитического синдрома, у больных ЦПС, ввиду наличия низкого уровня относительного содержания цитотоксических лимфоцитов внутри печеночных долек, не приводила к нарастанию выраженности цитолитического синдрома и сопровождалась низкой регенераторной пролиферацией гепатоцитов. Таким образом, сходные морфологические проявления при декомпенсированном ЦП разной этиологии при различном функциональном состоянии структурных элементов, принимающих участие в клеточно-опосредованном повреждении гепатоцитов, могут иметь различные последствия и, в свою очередь, вызывать неадекватную уровню повреждения низкую компенсаторную регенераторную реакцию паренхимы печени, влекущую прогрессирование печеночной недостаточности.

5.3 Клиническое значение пролиферативной активности гепатоцитов, синусоидных клеток и клеток опухоли при гепатоцеллюлярной карциноме В и гепатоцеллюлярной карциноме С

Пролиферативная активность гепатоцитов, определяемая по экспрессии Ki67, при ГЦК, равно как и при ЦП, была значительно ниже, чем у больных ХГ (Таблица 5.3.8). Пролиферативная активность гепатоцитов у больных ГЦКВ была выше, чем у больных ГЦКС ($1,65 \pm 0,55\%$ у больных ГЦКВ и $0,49 \pm 0,42\%$ при ГЦКС, $p < 0,05$).

Таблица 5.3.8 – Пролиферативная активность гепатоцитов у больных ХГ, ЦП, гепатоцитов и клеток опухоли у больных ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18)

Обследуемая группа	n С/В	Индекс пролиферативной активности паренхиматозных клеток (%) в ткани:			
		печени		опухоли	
		HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17/11	$4,09 \pm 0,43$ ^{1, 2, *, #}	$7,55 \pm 1,69$ ^{1, 2, *}	–	–
ЦП	5/5	$0,39 \pm 0,24$ ^{1, #, *}	$1,13 \pm 0,58$ ¹	–	–
ГЦК	5/5	$0,49 \pm 0,42$ ^{2, #}	$1,65 \pm 0,55$ ²	$46,11 \pm 6,82$ [#]	$13,7 \pm 3,97$
Контроль	5	$1,14 \pm 0,57$		–	

Примечание: индексы ^{1,2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, ЦП или ГЦКВ ($p < 0,05$)

Опухолевые клетки имели высокую пролиферативную активность с преобладанием этого показателя у больных ГЦКС ($46,11 \pm 6,82\%$ при ГЦКС и $13,7 \pm 3,97\%$ при ГЦКВ, $p < 0,05$), Рисунок 10.

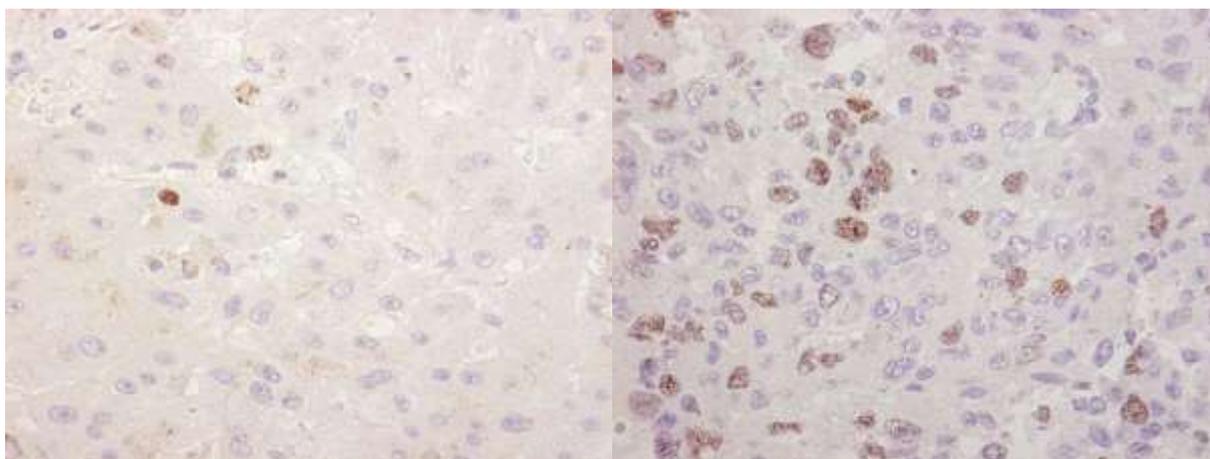


Рисунок 10 – Экспрессия KI-67 в ядрах паренхимы печени, окружающей опухолевые разрастания (слева) и опухолевых клеток (справа) у больного, умершего от ЦПВ с высокой гистологической активностью (ИГА по Knodell =13 баллов), ИГХ метод, DAB, $\times 400$

Пролиферативная активность синусоидных клеток печени у больных ГЦК в зависимости от этиологии была аналогичной выявленной при ЦП. Для ГЦКС была характерна низкая пролиферативная активность синусоидных клеток, тогда как для ГЦКВ существенно более высокая, $p < 0,05$ (Таблица 5.3.9).

Таблица 5.3.9 – Пролиферативная активность синусоидных клеток печени у больных ХГ, ЦП, синусоидных клеток печени и стромы опухоли у больных ГЦК, ассоциированных с HCV и HBV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18 по Knodell)

Обследуемая группа	n С/В	Индекс пролиферативной активности синусоидных клеток/ клеток стромы (%) в ткани:			
		печени		опухоли	
		HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17/11	$4,63 \pm 0,71$ ^{1, 2, #, *}	$7,72 \pm 2,61$ ^{2,3*}	–	–
ЦП	5/5	$0,00 \pm 0,00$ ^{1, #}	$4,13 \pm 1,20$ ^{2,*}	–	–
ГЦК	5/5	$0,24 \pm 0,24$ ^{2, #}	$2,46 \pm 1,35$ ³	$0,00 \pm 0,00$ [#]	$1,38 \pm 0,87$
Контроль	5	$0,00 \pm 0,00$		–	

Примечание: индексы ^{1,2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, ЦП или ГЦКВ ($p < 0,05$).

У больных хронической HBV-инфекцией максимальная выраженность пролиферативной активности синусоидных клеток наблюдалась на этапе ХГ при умеренной и высокой гистологической активности гепатита со снижением на этапе ЦП и максимальным снижением у больных ГЦК. В опухолевой ткани больных ГЦКС пролиферация стромы отсутствовала, тогда как пролиферативная активность стромы опухоли у больных ГЦКВ была умеренной ($0,00 \pm 0,00\%$ у больных ГЦКС против $1,38 \pm 0,87\%$ у больных ГЦКВ, $p < 0,05$).

В печени больных ГЦК представлены разные варианты типовых патологических процессов, один – в виде хронического иммуноопосредованного воспаления с постоянным повреждением гепатоцитов и сокращением популяции паренхиматозных клеток ввиду неадекватной низкой регенераторной пролиферации, другой – в виде безудержного разрастания опухолевых клеток при крайне высоком уровне их пролиферации.

В ткани печени больных ГЦК сохранялись закономерности, характерные для печеночной ткани больных ЦП (Таблица 5.3.10). Низкий показатель пролиферативной активности гепатоцитов, отражающей выраженность регенераторной пролиферации паренхимы печени в условиях сохраняющейся умеренной или высокой гистологической активности процесса у больных декомпенсированным ЦП, как и у больных ГЦК при схожести морфологической картины, в зависимости от этиологии показывает различную степень разрегулирования клеточно-опосредованного повреждения. Пролиферативная активность гепатоцитов, в целом неадекватно низкая при сохраняющемся высоком уровне повреждения гепатоцитов, у больных ГЦКВ с более выраженным уровнем цитолиза оказалась значительно выше пролиферативной активности гепатоцитов у больных ГЦКС с более низким уровнем цитолиза ($109,4 \pm 20,3$ ед./л. у больных ГЦКВ против $37,67 \pm 9,02$ ед./л у больных ГЦКС, $p < 0,05$).

Таблица 5.3.10 – Сопоставление индекса пролиферативной активности гепатоцитов синдексом потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу (IFbcl) и уровнем цитолитического синдрома (по активности сывороточной АлАт) у больных ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18 по Knodell)

Диагноз	n С/В	Индекс пролиферативной активности гепатоцитов, %, M±m		IFbcl (FasL/Fas/bcl) M±m		АлАт, ед./л M±m	
		HCV	HBV	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	17/11	4,09±0,43 1, 2, 3 *, #	7,55±1,69 1, 2, 3 *	0,25±0,08 ¹	0,16±0,05 ¹	120,94±29,71 1, 2, *, #	965,2±269,0 1, 2, *
ЦП	5/5	0,39±0,24 1, 4, *#	1,13±0,58 ¹	0,05±0,02 ^{1, *, #}	5,60±1,78 ^{1, 2, *}	98,00±58,51	248,4±95,0 1, *
ГЦК (печень)	5/5	0,49±0,42 2, #	1,65±0,55 ²	0,09±0,06 [#]	0,68±0,37 ² (n=4)	37,67±9,02 1, #	109,4±20,3 ^{2, *}
ГЦК (опухоль)	5/5	46,11±6,82 3, 4, *, #	13,7±3,97 ^{3, *}	1,13±1,13 (n=2)	9 (n=1)	-	-
контроль	5	1,14±0,57		0,23±0,05		35,0±3,80	

Примечание: индексы ^{1,2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами; * – на статистически значимые различия с контролем, # – на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, ЦПВ или ГЦКВ (p<0,05)

Потенциальная готовность внутридольковых лимфоцитов, расположенных в опухолевой ткани к апоптозу, учитывая крайне низкий уровень экспрессии bcl-2 на их поверхности, по всей видимости, является высокой, что может объяснить несостоятельность клеточной противоопухолевой защиты и прогрессирование опухолевого роста с более высоким показателем пролиферативной активности у больных ГЦКС (46,11±6,82% у больных ГЦКС против 13,7±3,97% у больных ГЦКВ, p<0,05).

Таким образом, постоянное повреждение гепатоцитов, лежащее в основе всех этапов хронической HBV-и HCV-инфекции, приводит к регенераторной пролиферации гепатоцитов как типовой компенсаторной реакции, обеспечивающей на этапе ХГ сохранение популяции паренхиматозных клеток и функции органа в целом, возрастая при нарастании повреждения, что не приводит к развитию печеночной недостаточности на этом этапе. На

этапе же декомпенсированного ЦП и ГЦК, характеризующихся низкой пролиферативной активностью гепатоцитов при сохраняющемся высоком уровне повреждения, наблюдается сокращение популяции паренхиматозных клеток и развитие печеночной недостаточности. Хроническая HCV-инфекция характеризуется значительно менее выраженной, по сравнению с хронической HBV-инфекцией, пролиферативной активностью гепатоцитов при сопоставимой гистологической активности. Крайней степенью выраженности патологической пролиферации обладает опухолевая ткань при ГЦК, строма которой демонстрирует разный, в зависимости от этиологии, но несостоятельный местный клеточный иммунный ответ. Адекватность регенераторной пролиферации имеющемуся повреждению, равно как и выраженность патологической пролиферации при опухолевом росте, напрямую связаны как с прогрессированием печеночной недостаточности, так и с темпами прогрессирования опухоли соответственно, что определяет продолжительность жизни больных с неблагоприятными исходами хронической HBV-и HCV-инфекции.

ГЛАВА 6 КЛИНИЧЕСКАЯ И ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА ФИБРОГЕНЕЗА
ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ И ЦИРРОЗЕ,
АССОЦИИРОВАННЫХ С HBV И HCV

В главе представлены результаты анализа уровня экспрессии α -SMA в звездчатых клетках печени у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV. Накопленные данные свидетельствуют об исключительно важной роли активированных звездчатых клеток (stellate cells) в процессе фиброгенеза при хронических диффузных заболеваниях печени [151, 184, 259, 345]. Они характеризуются экспрессией α -SMA, причем, по мнению большинства исследователей, лишь длительная активация звездчатых клеток приводит к запуску процесса фиброгенеза и его прогрессированию [259, 266].

6.1 Экспрессия α -SMA в звездчатых клетках печени при хронических гепатитах и циррозах, ассоциированных с HBV и HCV

Анализ α -SMA-позитивной площади, занимаемой активированными звездчатыми клетками внутри печеночных долек при ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV, показал статистически значимые различия этого показателя как в зависимости от этиологии, так и в зависимости от рассматриваемой нозологической формы (Таблица 6.1.1). Цирротическая стадия ХГ, или ЦП, характеризовалась более высоким уровнем экспрессии α -SMA как у пациентов с хронической HBV-инфекцией, так и у больных с хронической HCV-инфекцией ($1,34 \pm 1,2\%$ при ХГС против $14,47 \pm 6,34\%$ при ЦПС, $p < 0,05$; $0,54 \pm 0,07\%$ при ХГВ против $0,89 \pm 0,30\%$ при ЦПВ, $p < 0,05$). При этом, как на этапе ХГ, так и на этапе декомпенсированного ЦП уровень

экспрессии α -SMA был значительно выше у больных с HCV-инфекцией ($p < 0,05$).

Таблица 6.1.1 – Уровень экспрессии α -SMA в звездчатых клетках печени у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV

Обследуемая группа	Число больных		% площади экспрессии α -SMA M \pm m	
	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ	29	29	1,34 \pm 1,2 ^{#,*1}	0,54 \pm 0,07 ²
ЦП	5	5	14,47 \pm 6,34 ^{#,*1}	0,89 \pm 0,30 ²
Контроль	5		0,72 \pm 0,28	

Примечание: индексы ^{1, 2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами, [#] – указывает на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, * – указывает на статистически значимые различия с контролем, ($p < 0,05$)

И на этапе ХГ, и на этапе ЦП у больных с хронической HCV-инфекцией этот показатель имел существенно более высокие значения, чем в интактной печени ($p < 0,05$). У больных с HBV-инфекцией, значение показателя активации звездчатых клеток не отличался от контрольных значений.

Степень активации звездчатых клеток печени у больных ХГВ не зависела от гистологической активности гепатита (Таблица 6.1.2).

Таблица 6.1.2 – Уровень экспрессии α -SMA в звездчатых клетках печени у больных ХГВ и ХГС, в зависимости от гистологической активности (по Knodell)

ИГА	Число больных		% площади экспрессии α -SMA M \pm m	
	HCV	HBV	HCV	HBV
1-3 балла	4	11	0,76 \pm 0,31 ^{1, 2}	0,70 \pm 0,12
4-8 баллов	8	7	0,67 \pm 0,26 ^{#,3, 4}	0,31 \pm 0,08*
9-12 баллов	11	5	1,47 \pm 1,04 ^{#,*1,3}	0,43 \pm 0,12
13-18 баллов	6	6	2,36 \pm 1,88 ^{#,*2,4}	0,59 \pm 0,13
Контроль	5		0,72 \pm 0,28	

Примечание: индексы ^{1, 2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами, [#] – указывает на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, * – указывает на статистически значимые различия с контролем, ($p < 0,05$)

Активация звездчатых клеток у больных ХГВ была значительно ниже, чем у больных ХГС со слабой, умеренной и высокой степенью гистологической активности. Напротив, умеренная и высокая гистологическая активность патологического процесса у больных ХГС характеризовались возрастанием активации звездчатых клеток, превышая аналогичный показатель в группе больных ХГВ ($p < 0,05$).

Таким образом, нарастание повреждения паренхимы печени, определяемое по выраженности гистологической активности при ХГС сопровождается активацией звездчатых клеток печени, в отличие от ХГВ, более низкий уровень активации звездчатых клеток печени при котором не зависит от выраженности повреждения паренхимы печени.

При сопоставлении степени выраженности активации звездчатых клеток печени по экспрессии α -SMA у больных ХГ и ЦП с одинаковой умеренной и высокой гистологической активностью (ИГА по Knodell от 9 до 18 баллов) статистически значимые отличия выявлены лишь при хронической HCV-инфекции, когда у больных ЦПС выраженность экспрессии α -SMA в паренхиме печени была выше аналогичного показателя при ХГС ($1,78 \pm 1,4\%$ у больных ХГС против $14,47 \pm 6,34\%$ у больных ЦПС, $p < 0,05$), Таблица 6.1.3.

Таблица 6.1.3 – Уровень экспрессии α -SMA в звездчатых клетках печени у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой гистологической активности (ИГА 9-18 по Knodell)

Обследуемая группа	Число больных		% площади экспрессии α -SMA M \pm m	
	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ (ИГА 9-18 баллов)	17	11	$1,78 \pm 1,4^{#,*},1$	$0,52 \pm 0,09$
ЦП (ИГА 9-18 баллов)	5	5	$14,47 \pm 6,34^{#,*},1$	$0,89 \pm 0,30$
Контроль	5		$0,72 \pm 0,28$	

Примечание: индексы ^{1, 2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами, # – указывает на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, * – указывает на статистически значимые различия с контролем, ($p < 0,05$)

Анализ содержания активированных звездчатых клеток у пациентов с хронической HBV-инфекцией демонстрирует низкий уровень экспрессии α -SMA в паренхиме печени у больных ХГВ и ЦПВ, сопоставимый с контрольными показателями ($p > 0,05$).

Сопоставление уровня экспрессии α -SMA в звездчатых клетках паренхимы печени показало, что выраженность активации звездчатых клеток не зависела напрямую от уровня активности АлАт в сыворотке крови ни у больных ХГВ, ни у больных ХГС (Таблица 6.1.4).

Таблица 6.1.4 – Уровень экспрессии α -SMA в звездчатых клетках печени в зависимости от выраженности цитолитического синдрома (по активности АлАт в сыворотке крови) у больных ХГВ и ХГС

Обследуемая группа	Число больных		% площади экспрессии α -SMA M \pm m	
	HCV	HBV	HCV	HBV
<40	9	14	1,26 \pm 1,12 ^{#,*}	0,61 \pm 0,11
40-100	11	5	1,09 \pm 0,91 ^{#,*}	0,56 \pm 0,05
>100	9	7	1,73 \pm 1,63 ^{#,*}	0,52 \pm 0,13
Контроль	5		0,72 \pm 0,28	

Примечание: индекс [#] – указывает на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, * – указывает на статистически значимые различия с контролем, ($p < 0,05$)

Увеличение показателя гистологического индекса стадии заболевания (ГИС по Desmet) не вызывало значимого увеличения уровня экспрессии α -SMA в звездчатых клетках печени у больных на этапе ХГ с более высоким уровнем активации звездчатых клеток при хронической HCV-инфекции ($p < 0,05$), Таблица 6.1.5. ЦПС с такими же высокими показателями ГИС как и при ЦПВ, характеризовался очень высокой степенью активации звездчатых клеток, существенно превышающей аналогичный показатель у больных ЦПВ ($p < 0,05$).

Таблица 6.1.5 – Уровень экспрессии α -SMA в звездчатых клетках печени в зависимости от гистологического индекса стадии заболевания (по Desmet) у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV

Группы больных	Число больных		% площади экспрессии α -SMA M \pm m	
	HCV	HBV	HCV	HBV
ХГ (ГИС 0-4 балла)	14	19	1,62 \pm 0,35 ^{#,*,1}	0,52 \pm 0,09
ХГ (ГИС 5-8 баллов)	15	8	1,81 \pm 1,51 ^{#,*,2}	0,44 \pm 0,06
ЦП (ГИС 13-16 баллов)	5	5	14,47 \pm 6,34 ^{#,*,1,2}	0,89 \pm 0,30
Контроль	5		0,72 \pm 0,28	

Примечание: индексы ^{1, 2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами, [#] – указывает на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, * – указывает на статистически значимые различия с контролем, (p<0,05)

Таким образом, выраженность активации звездчатых клеток паренхимы печени, определяющейся по экспрессии в них α -SMA зависит от этиологии патологического процесса и преобладает на всех этапах естественного течения хронической HCV-инфекции. Цирротическая стадия хронического гепатита, вне зависимости от этиологии патологического процесса, характеризуется более высоким уровнем активации звездчатых клеток. Выраженность активации звездчатых клеток печени при ХГС зависит от гистологической активности хронического гепатита, увеличиваясь при ее нарастании, и напрямую не зависит от выраженности цитолитического синдрома, определяемого по уровню активности АлАт в сыворотке крови и от степени выраженности фиброза. При хронической HBV-инфекции выраженность экспрессии α -SMA, отражающая степень активации звездчатых клеток, не зависит от гистологической активности патологического процесса и выраженности цитолитического синдрома.

6.2 Сравнительная характеристика экспрессии α -SMA, выраженности макрофагальной активности и пролиферации непаренхиматозных клеток

внутри печеночных долек при хронических гепатитах и циррозах печени,
ассоциированных с HBV и HCV

Исходя из современных представлений о механизмах фиброгенеза при хронических диффузных заболеваниях печени, основная роль в продукции коллагена и прогрессировании фиброгенеза принадлежит активированным звездчатым клеткам [205]. Длительная активация звездчатых клеток осуществляется трансформирующим фактором TGF β , который продуцируется CD68-позитивными макрофагами (клетками Купфера) при повышении их функциональной активности, в частности, при развитии повреждения паренхимы печени [160, 217, 222]. Таким образом, процесс фиброгенеза в печени представляется многоэтапным сложным патологическим процессом с вовлечением в него множества клеточных популяций, расположенных в печеночной дольке.

Наши данные свидетельствуют о значительном увеличении пролиферативной активности полиморфной популяции непаренхиматозных клеток вне зависимости от этиологии хронического гепатита внутри печеночных долек при нарастании повреждения паренхимы печени в виде возрастания гистологической активности хронического гепатита (Таблица 6.2.6). Раздражение и реактивная пролиферация полиморфной популяции непаренхиматозных клеток печени при нарастающем повреждении паренхимы печени отчасти происходила за счет популяции тканевых CD68-позитивных макрофагов, что влекло за собой увеличение средней площади, занимаемой ими по мере нарастания повреждения.

Таблица 6.2.6 – Выраженность пролиферации непаренхиматозных клеток печени, макрофагальной активности паренхимы печени и выраженности активации звездчатых клеток в зависимости от гистологической активности ХГ, ассоциированного с HCV и HBV (ИГА по Knodell)

ИГА, баллы	Число больных		Содержание клеток в паренхиме печени (M±m)					
	HCV	HBV	CD68, % площади		α-SMA (звездчатые клетки), % площади		Ki67, % позитивных непаренхиматозных клеток	
			HCV	HBV	HCV	HBV	HCV	HBV
1-3	4	11	2,42±0,72 1, 2, *, #	0,99±0,21 1, *	0,76±0,31 1, 2	0,70±0,12	2,50±1,04 1,2,*	3,34±0,64 1,*
4-8	8	7	2,52±0,69 3, 4, *, #	0,83±0,14 2, *	0,67±0,26 #3, 4	0,31±0,08 *	3,95±0,90 *,#	2,27±1,06 1,2,3,*
9-12	11	5	5,03±2,63 1, 3, *, #	2,88±1,1	1,47±1,04 #*1,3	0,43±0,12	4,63±0,99 1,*	9,2±5,42 2,*
13-18	6	6	5,68±2,72 2, 4, *, #	3,53±0,96 1, 2	2,36±1,88 #*2,4	0,59±0,13	4,63±0,98 2,*	6,48±2,18 3,*
Контр.	5		4,35±1,4		0,72±0,28		0,0±0,0	

Примечание: индексы ^{1, 2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами, # – указывает на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, * – указывает на статистически значимые различия с контролем, (p<0,05)

Увеличение площади, занимаемой CD68-позитивными внутридольковыми макрофагами, отражающей выраженность макрофагальной активности по мере нарастания повреждения наблюдалось как у больных ХГС, так и у больных ХГВ и было наиболее выражено в группе пациентов с ХГС (p<0,05) при любой степени выраженности повреждения (Рисунок 11).

Анализ содержания активированных звездчатых клеток, имеющих ключевую роль в процессе фиброгенеза, показал значительные отличия в зависимости от этиологии ХГ (Таблица 6.2.6). У больных ХГС нарастание пролиферативной активности непаренхиматозных клеток печеночных долек и выраженная внутридольковая макрофагальная активность при нарастании гистологической активности гепатита сопровождалась нарастанием средней площади, занимаемой α-SMA-позитивными, то есть активированными, звездчатыми клетками (p<0,05). Напротив, у больных ХГВ нарастание гистологической активности патологического процесса в печени,

сопровождается такой же, как и у больных ХГС, пролиферацией непаренхиматозных клеток, вызывало значительно менее выраженную чем у больных ХГС, но нарастающую по мере увеличения повреждения, макрофагальную внутридольковую активность, и не приводило к увеличению средней площади, занимаемой α -SMA-позитивными активированными звездчатыми клетками ($p > 0,05$).

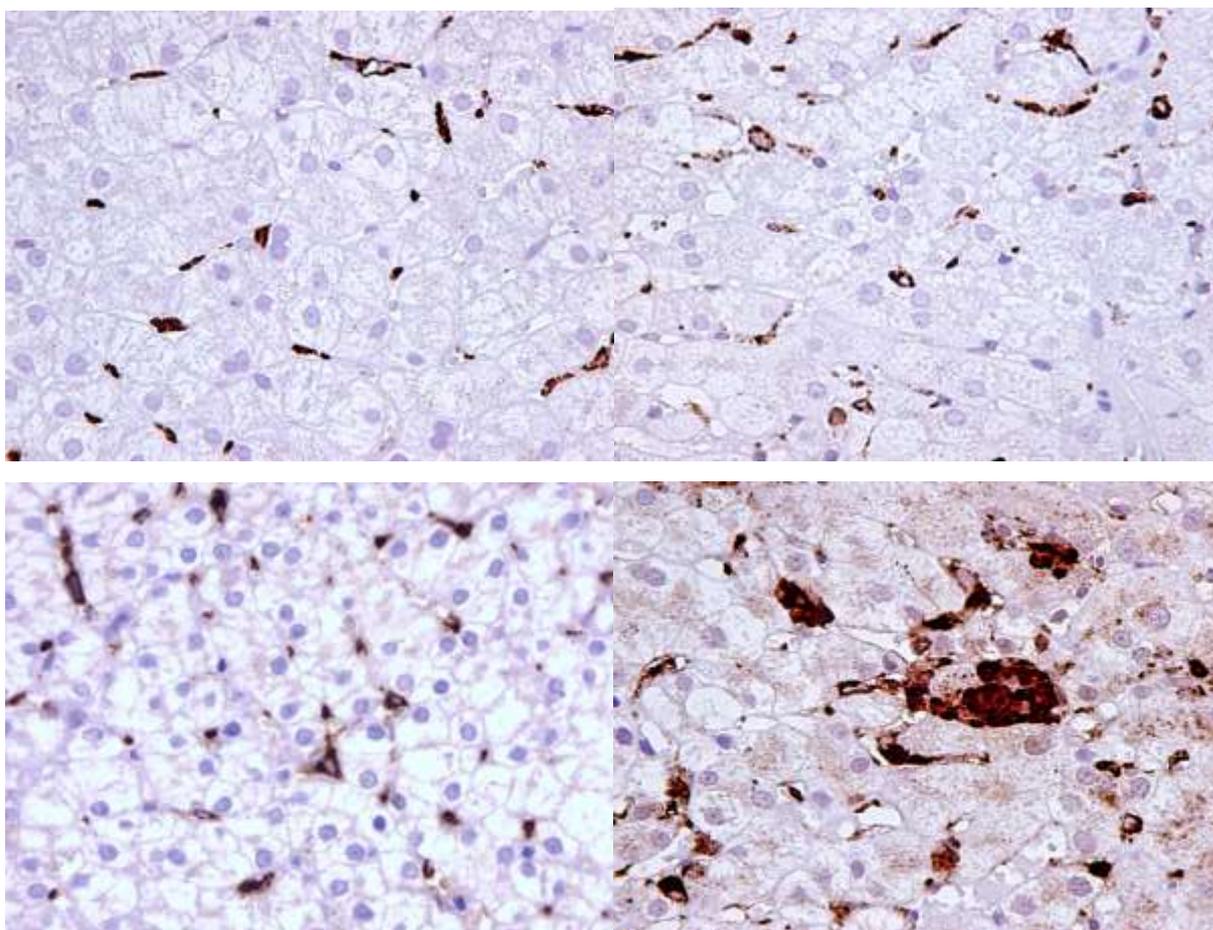


Рисунок 11 – Разная выраженность макрофагальной реакции по экспрессии CD68 в купферовских клетках печени (коричневое окрашивание) у больных ХГВ (сверху, слева – при ИГА=3 балла; сверху, справа – при ИГА=13 баллов) и ХГС (внизу, слева – при ИГА=5 баллов; внизу, справа – при ИГА 13 баллов). ИГХ реакция, DAB. Ув. x400

Особенности взаимосвязи различных непаренхиматозных клеточных популяций внутри печеночных долек при хронической HBV- и HCV-инфекции, выявленные на этапе ХГ, имелись и на этапе ЦП. Сравнительный анализ количественного содержания и функциональной активности различных непаренхиматозных клеток печени при ХГ и ЦП с умеренной и

высокой гистологической активностью хронического гепатита (ИГА по Knodell от 9 до 18 баллов) показал разнонаправленные процессы пролиферативной активности непаренхиматозных клеток печени в зависимости от этиологии патологического процесса (Таблица 6.2.7).

Таблица 6.2.7 – Выраженность пролиферации непаренхиматозных клеток печени, макрофагальной активности паренхимы печени и выраженности активации звездчатых клеток у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой гистологической активности (ИГА по Knodell от 9 до 18 баллов)

Группы больных	n	Содержание клеток в паренхиме печени (M±m)		
		CD68, % площади	α-SMA (звездчатые клетки), % площади	Ki67, % позитивных непаренхиматозных клеток
ХГС	17	5,26 ± 2,59 [#]	1,78±1,4 ^{#,*,1}	4,63 ± 0,71 ^{3,*,#}
ХГВ	11	3,24 ± 0,67	0,52±0,09	7,72 ± 2,61 ^{4,*}
ЦПС	5	3,84 ± 0,87 [#]	14,47±6,34 ^{#,*,1}	0,00 ± 0,00 ^{3,#}
ЦПВ	5	2,69 ± 0,65 [*]	0,89±0,30	4,13 ± 1,20 ^{4,*}
контроль	5	4,35±1,4	0,72±0,28	0,00 ± 0,00

Примечание: индексы ^{1, 2} и др. указывают на статистически значимые различия между сравниваемыми группами, [#] – указывает на статистически значимые различия с соответствующей группой ХГВ, ^{*} – указывает на статистически значимые различия с контролем, (p<0,05)

При хронической HBV-инфекции пролиферативная активность непаренхиматозных клеток печени была наиболее выраженной и значительно более высокой на этапе ХГ (7,72 ± 2,61% при ХГВ против 4,13 ± 1,20% при ЦПВ, p<0,05). Хроническая HCV-инфекция характеризовалась значительно менее выраженной пролиферативной активностью непаренхиматозных клеток печени на этапе ХГ (p<0,05) и полным ее отсутствием на этапе ЦП (p<0,05). При умеренной и высокой гистологической активности ХГ и декомпенсированного ЦП выявлены разнонаправленные соотношения различных непаренхиматозных клеточных популяций, расположенных в печеночных дольках (Таблица 6.2.7). Высокая пролиферативная активность непаренхиматозных клеток печени у больных ХГВ сопровождалась

умеренной макрофагальной внутридольковой активностью и низкой степенью активации звездчатых клеток. Напротив, значительно менее выраженная пролиферативная активность непаренхиматозных клеток при ХГС ($p < 0,05$) сопровождалась значительно более высокой внутридольковой макрофагальной активностью ($p < 0,05$) и более выраженной активацией звездчатых клеток ($p < 0,05$). Аналогичные тенденции были выявлены на этапе декомпенсированного ЦП, когда умеренно выраженная пролиферация непаренхиматозных клеток при ЦПВ сопровождалась низкой внутридольковой макрофагальной активностью и низкой степенью активации звездчатых клеток. Отсутствие пролиферации непаренхиматозных клеток ($p < 0,05$) у больных декомпенсированным ЦПС сопровождалось более высокой внутридольковой макрофагальной активностью ($p < 0,05$) и крайне высоким уровнем активации звездчатых клеток ($p < 0,05$).

При анализе характера экспрессии α -SMA в печеночной ткани у части пациентов с хронической HBV- и HCV-инфекцией нами была выявлена ее необычная локализация – в ядрах гепатоцитов. При проведении сопоставлений оказалось, что экспрессия α -SMA в ядрах гепатоцитов наблюдается только у больных (29 пациентов с ХГВ и 29 пациентов с ХГС), степень выраженности фиброза печени у которых не достигала стадии цирроза. Для больных ЦП и ГЦК (у 10 пациентов с HBV-инфекцией и 10 пациентов HCV-инфекцией), развившейся на фоне цирротической трансформации печени, с клиническими проявлениями декомпенсации (класс С по Чайлд-Пью), не была характерна экспрессия α -SMA в ядрах перенхиматозных клеток, возможно, связана с особенностями регуляции межклеточных взаимоотношений в условиях патологии, и несомненно, требует дальнейшего изучения.

Таким образом, единые механизмы запуска патологического фиброгенеза, предусматривающие участие различных клеточных популяций

непаренхиматозных клеток печеночной долики при естественном течении хронической HBV- и HCV-инфекции, имеют значительные отличия, обусловленные этиологией патологического процесса и определяющие характер течения и исход различных этиологических форм. Вне зависимости от этиологии патологического процесса запуск фиброгенеза, по всей видимости, осуществляется при длительно протекающем процессе клеточно-опосредованного иммунного повреждения гепатоцитов с последующей реактивной пролиферацией непаренхиматозных клеток печени и закономерным повышением активности тканевых макрофагов, а именно CD68-позитивных купферовских клеток, выполняющих помимо функции элиминации клеточного детрита функцию активации звездчатых клеток путем выработки и экспрессии трансформирующего фактора TGF β [217, 222, 274]. Имеющиеся особенности клеточного повреждения при хронической HBV- и HCV-инфекции, приводят к различному уровню активации тканевых макрофагов со значительным ее преобладанием при хронической HCV-инфекции. На этапе ХГ у больных с хронической HBV-инфекцией клеточно-опосредованное иммунное повреждение гепатоцитов, морфологически в виде наличия избыточной клеточной мононуклеарной внутрислобковой инфильтрации, клинически в виде гиперферментемии вызывает увеличение макрофагальной активности CD68-позитивных купферовских клеток и к умеренному увеличению пролиферации непаренхиматозных синусоидных клеток печени (в том числе – звездчатых клеток), Рисунок 12. Макрофагальная активность наиболее выражена при умеренной и высокой гистологической активности, опосредованно вызывая слабую активацию звездчатых клеток, степень которой напрямую не зависит от гистологической активности гепатита (ИГА по Knodell) и уровня цитолитического синдрома, а также от степени фиброза (ГИС по Desmet).

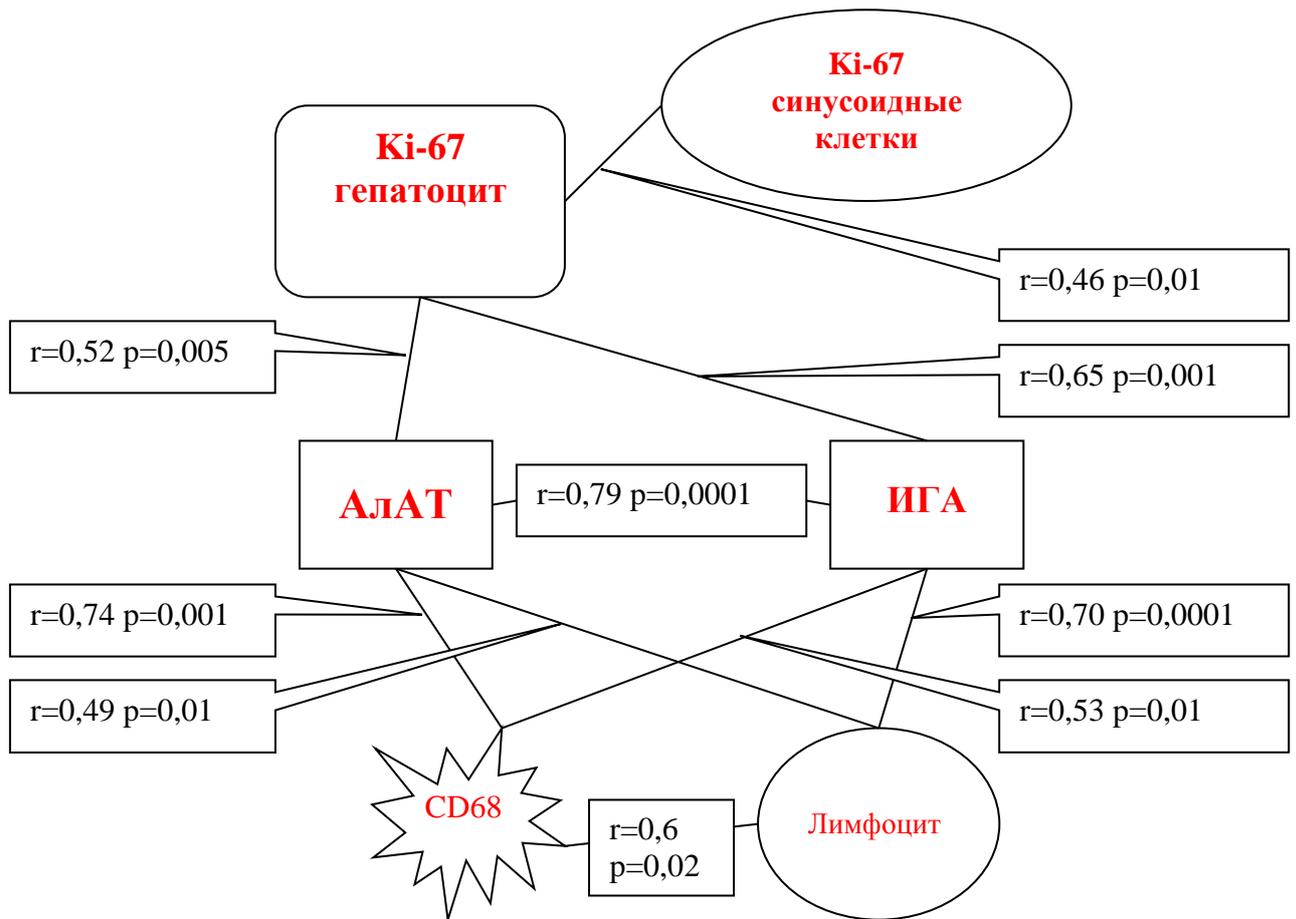


Рисунок 12 – Корреляционные зависимости, характеризующие предпосылки патологического фиброгенеза при ХГВ.

Длительное волнообразно прогрессирующее повреждение, характерное для ХГВ, с течением длительного времени приводит к постепенному увеличению степени выраженности фиброза, обусловленного синтезом коллагена активированными звездчатыми клетками. Многолетнее волнообразное течение иммунного клеточно-опосредованного повреждения паренхимы печени, являющегося основой ХГ и прогрессивно развивающийся фиброз печени приводят к развитию цирротической стадии ХГ; декомпенсированный ЦПВ характеризуется низким уровнем активации звездчатых клеток, и, вероятно, с низкой продукцией коллагенов и более длительными сроками жизни этих пациентов.

Особенности повреждения гепатоцитов при ХГС, характеризуются клинической скрытностью и несоответствием уровня выраженности цитолитического синдрома гистологической активности хронического гепатита, обусловленных функциональной несостоятельностью внутридольковых лимфоцитов в виде их высокой готовности к апоптозу. Вместе с тем, более высокое по сравнению с ХГВ содержание внутридольковых лимфоцитов у больных ХГС сопровождается более высоким содержанием CD68-позитивных макрофагов в паренхиме печени, что, в свою очередь влечет за собой более высокий уровень активации звездчатых клеток, зависящий от гистологической активности ХГ (ИГА по Knodell), и не зависящий от выраженности цитолитического синдрома и от степени выраженности фиброза (ГИС по Desmet), Рисунок 13.

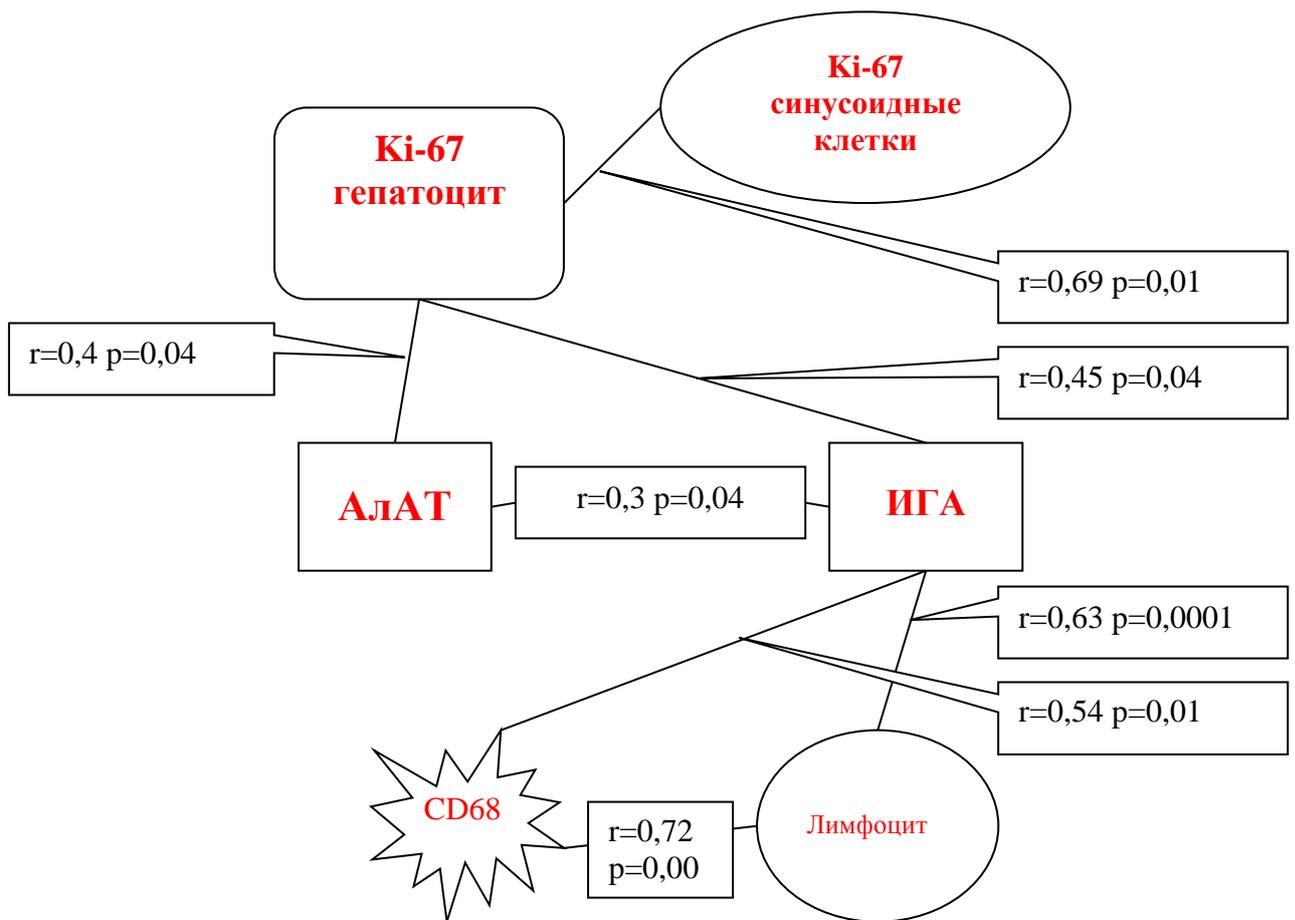


Рисунок 13 – Корреляционные зависимости, характеризующие предпосылки развития патологического фиброгенеза при ХГС.

Особенности фиброгенеза при хронической HCV-инфекции на этапе ХГ обуславливают значительно более выраженный и ранний фиброз печени при ХГС, прогрессирующий по мере увеличения гистологической активности гепатита со значительно более ранней по сравнению с хронической HBV-инфекцией, цирротизацией. Выраженная тканевая макрофагальная реакция при хронической HCV-инфекции в стадии декомпенсированного цирроза, при отсутствии пролиферации непаренхиматозных клеток печени, свидетельствующей о глубоких нарушениях межклеточных отношений, сопровождается крайне высоким показателем активации звездчатых клеток, влекущим за собой более выраженный синтез коллагенов, более выраженный процесс углубления цирротических изменений паренхимы печени и сокращение продолжительности жизни пациентов.

ГЛАВА 7 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Наши данные полностью подтверждают установившиеся как в отечественной, так и зарубежной литературе представления о важнейшем значении хронических вирусных гепатитов в клинической и патоморфологической практике. Несмотря на значительное число исследований, посвященных различным сторонам этой проблемы, многие теоретические вопросы остаются не до конца выясненными, а лечение далеко не всегда является эффективным.

Накопившиеся за последние десятилетия данные позволили сформулировать концепцию поступательного развития патологических состояний, вызываемых HBV и HCV. В настоящее время большинство исследователей рассматривают состояния, обусловленные HBV и HCV как звенья единого процесса – от острого гепатита через стадию хронического гепатита к циррозу печени и гепатоцеллюлярной карциноме [54]. Ввиду различных клинических и морфологических проявлений каждого из этих этапов, обусловленных качественно разными изменениями в печени, они формально рассматриваются как отдельные нозологические формы, по сути же являясь этапами единого патологического процесса. Каждое из этих заболеваний (ХГ, ЦП и ГЦК) характеризуется единством этиологии (вирусы гепатита В и С) и во многом сходным патогенезом (хронический иммунопатологический процесс в печени, следствием которого являются постоянное повреждение, регенераторная или патологическая пролиферация гепатоцитов и прогрессирующий фиброгенез) [121]. Вместе с тем для каждой из указанных нозологических форм характерно преобладание одного или нескольких из перечисленных процессов. Для хронического гепатита характерно преобладание повреждения и регенерации, для цирроза печени

наряду с сохраняющимся повреждением и непрерывной регенерацией характерно преобладание процессов несбалансированного фиброгенеза. Гепатоцеллюлярная карцинома, развивающаяся на фоне цирротической трансформации печени, является проявлением нарушения регуляции клеточного роста и патологической пролиферации [184].

Несмотря на сходные клинико-биохимические симптомы, для каждого из этапов патологического процесса характерны особенности клинического течения и структурных изменений в печени, а также разный прогноз, обусловленные различными патогенетическими механизмами хронической HBV- и HCV-инфекции.

7.1 Клинико-лабораторная характеристика хронической HBV- и HCV-инфекции

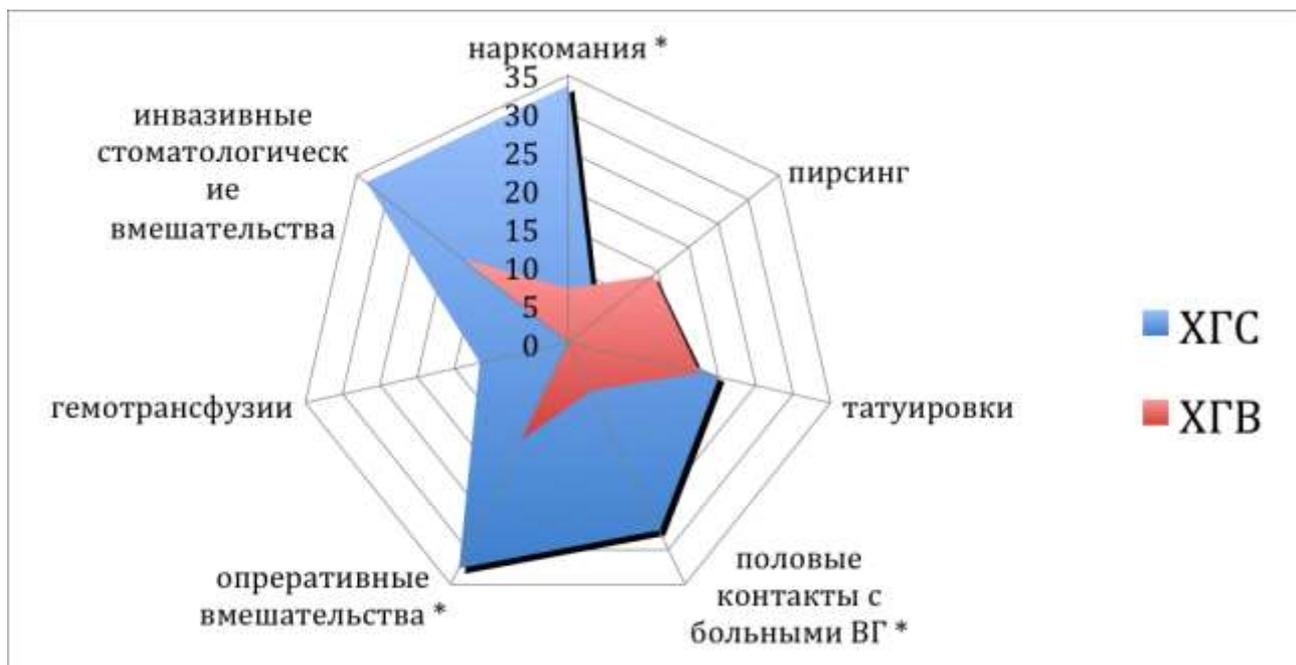
Одним из необходимых условий для формирования цирротической и далее опухолевой трансформации печени, является временной фактор. Очевидно, что для развития качественно новых изменений в печени требуется продолжительное время, часто измеряемое десятилетиями. Хроническая HBV- и HCV-вирусная инфекция в виде ХГ, по нашим данным, наиболее часто встречалась у лиц молодого возраста, а средняя длительность заболевания у большинства пациентов ХГ не превышала 10 лет (у 93% больных ХГС и 84% больных ХГВ, $p > 0,05$). Цирротическая стадия ХГ с летальным исходом (декомпенсированный ЦП) закономерно наблюдалась у пациентов более старшего возраста. Средний возраст больных ХГС ($26,7 \pm 10,1$ лет) и ХГВ ($22,1 \pm 6,7$ лет) был значительно ниже ($p < 0,05$) среднего возраста больных ЦПС ($46,0 \pm 13,6$ лет) и ЦПВ ($67,8 \pm 5,3$ лет) соответственно. Наши данные свидетельствуют о значительно более коротких сроках

развития цирротической перестройки печени у больных ХГС по сравнению с больными ХГВ. Средний возраст умерших от ЦПС был примерно на 20 лет меньше, чем у больных ЦПВ ($46,0 \pm 13,6$ у больных ЦПС и $67,8 \pm 5,3$ у больных ЦПВ, $p < 0,05$). Анализ среднего возраста пациентов, инфицированных HCV и умерших от ЦПС и ГЦКС, позволяет, опираясь на данные наших исследований, предполагать временные периоды между возникновением ХГ и развитием несовместимого с жизнью декомпенсированного ЦП (в среднем 20 лет), а также ГЦК, приводящей к смерти (в среднем 15 лет) в исходе хронической HCV-инфекции. Условный расчет аналогичных периодов при ХГВ, ЦПВ и ГЦКВ позволяет предполагать срок между развитием ХГ и декомпенсированного ЦП, ставшим причиной смерти, в среднем 45 лет. Вместе с тем, средний возраст умерших от ГЦКВ составил $56,0 \pm 9,0$ лет, что существенно ниже аналогичного показателя у больных ГЦКС ($p < 0,05$) и в среднем на 10 лет меньше, чем возраст умерших от ЦПВ ($p < 0,05$). Это косвенно свидетельствует о более раннем и быстро развивающемся канцерогенезе при HBV-инфекции. Результаты наших исследований совпадают с данными К. Ito (2010) и D. Vekku (2011) [209, 302], считающих возраст более 40 лет фактором риска развития ГЦК.

Наши данные о временных периодах формирования декомпенсированного ЦП и ГЦК отличаются от сведений, полученными другими исследователями. Так, Е.А. Елпаева с соавторами (2014), изучая естественное течение ХГВ, вызываемого мутантными вариантами вируса гепатита В, отмечает формирование ЦП в течение 20-30 лет [140], тогда как данные Т.Т. Бугаевой с соавторами (2007) [171], свидетельствуют о более быстрой трансформации ХГ в ГЦК в Якутском регионе – в среднем 15 лет после инфицирования гепатотропными вирусами. Эпидемиологические исследования в Санкт-Петербурге показали формирование пика заболеваемости ХВГ спустя 10 лет после зарегистрированного пика заболеваемости ОВГ, а спустя еще 5 лет – пика летальности от хронических форм вирусного гепатита [172]. Некоторые

из исследователей обращают внимание на неодинаковую скорость прогрессирования ЦПС – выделяя наиболее частое медленное прогрессирование, в течение более чем 10 лет и быстрое прогрессирование – менее 10 лет [21]. По всей видимости, столь различные данные, полученные разными группами исследователей, обусловлены региональными особенностями естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции, а также крайней трудностью эпидемиологического мониторинга в связи с особенностями их клинического течения.

Анализ данных анамнеза, клинического наблюдения, результатов клинико-лабораторных исследований показал общность эпидемиологии и течения хронических гепатитов, вызываемых гепатотропными вирусами гепатита В и С. Вместе с тем, нами были выявлены некоторые социальные, эпидемиологические и клинико-лабораторные особенности ХГС, наряду с другими факторами, объясняющие его высокую распространенность. Несмотря на более высокий образовательный уровень больных ХГС ($p < 0,05$), имевших или получавших высшее образование, по сравнению с больными ХГВ, которые чаще нигде не работали и не учились ($p < 0,05$), больные ХГС наиболее часто страдали от алкогольной зависимости ($p < 0,05$) и парентеральной наркомании ($p < 0,05$). Некоторые эпидемиологические аспекты хронической HCV-инфекции объясняют более высокую распространенность ХГС. В частности, больные ХГС чаще больных ХГВ парентерально употребляли наркотические препараты ($p < 0,05$), а также имели половые отношения с больными ХГ ($p < 0,05$) (Рисунок 14). Учитывая ориентировочные сроки начала заболевания (более 10 лет), на которые чаще, чем больные ХГВ ($p < 0,05$) указывали пациенты из группы больных ХГС и средний возраст больных в этой группе ($25,5 \pm 9,2$ года), инфицирование HCV чаще происходило в подростковом возрасте.



Примечание: индекс * указывает на статистически значимые различия между сравниваемыми группами ($p < 0,05$)

Рисунок 14 – Возможные пути инфицирования HCV и HBV у больных ХГС и ХГВ

Данные исследователей о возможных путях инфицирования гепатотропными вирусами значительно различаются, Е.А. Девиен с соавторами (2011) вообще не выявили влияния социальных факторов на частоту распространения HCV-инфекции [47]. Большинство же исследователей разделяют мнение о влиянии социально-эпидемиологических факторов на течение гепатита и качество жизни пациентов [93, 107, 180] и рассматривают в качестве наиболее вероятного гемоконтактное заражение вирусом гепатита С при парентеральной наркомании или инвазивных медицинских вмешательствах [21, 42, 123, 157, 177]. Половой путь передачи HCV-инфекции, учитывая наличие других существенных факторов риска заражения, по всей видимости, является менее значимым [123]. При HBV-инфекции, напротив, некоторыми исследователями придается особое значение половому пути передачи [122].

Некоторые клинические особенности ХГС, а именно более стертая клиническая картина манифестации HCV-инфекции, когда больные впервые были госпитализированы лишь по поводу развития ХГС, также могут способствовать бесконтрольному распространению HCV-инфекции,

учитывая более частые беспорядочные половые связи и парентеральную наркоманию у этого контингента. У больных ХГВ, напротив, нами выявлена более ранняя клиническая манифестация HBV-инфекции, когда больные с HBV-инфекцией значительно чаще впервые госпитализировались по поводу ОГ ($p < 0,05$). Тенденция последних лет, когда HBV- и HCV-инфекция впервые манифестирует в виде ХГ, отмечена В.Ю. Назаровым и соавторами [175].

Среди клинических симптомов, большей частью схожих у больных ХГС и ХГВ, отмечены более частые жалобы больных ХГС на слабость ($p = 0,05$), снижение аппетита ($p < 0,05$), лихорадку ($p < 0,05$), а также более частое обнаружение пальмарной эритемы ($p < 0,05$). И у больных ХГС, и у больных ХГВ обращало на себя внимание преобладание безжелтушных форм ХГ ($p > 0,05$), однако, при анализе данных клинико-биохимических исследований была отмечена более часто встречающаяся у больных ХГС гиперферментемия по уровню активности в сыворотке крови АлАт ($p = 0,01$). Полученные нами данные совпадают с наблюдениями исследователей [21], описывающих более частую встречаемость пальмарной эритемы и желтухи у больных с хронической HCV-инфекцией.

О малосимптомном течении ЦП и ГЦК свидетельствует факт, что незадолго до смерти значительная часть больных (34,6% ЦПС и 70,6% ЦПВ $p < 0,05$, 68,0% ГЦКС и 47,4% ГЦКВ, $p > 0,05$) не могла указать продолжительность заболевания, а те симптомы, которые имелись у них продолжительное время или возникали периодически, не являлись поводом для обращения за медицинской помощью. Наши данные полностью совпадают с выводами исследователей о малосимптомном течении ЦП [157], и отмечающих обращаемость больных ГЦК за медицинской помощью лишь в терминальном периоде жизни [171]. Возможно, поздняя обращаемость пациентов за медицинской помощью и сниженная критика по отношению к состоянию своего здоровья были обусловлены злоупотреблением алкоголем,

наиболее распространенного у пациентов с ЦП (у 57,6% больных ЦПС и 52,0% больных ЦПВ, $p > 0,05$), а также печеночной энцефалопатией, закономерно развивающейся при декомпенсированном ЦП. Распространенность хронического алкоголизма у больных ГЦКС и ГЦКВ была значительно ниже, чем у пациентов с ЦПС и ЦПВ (57,6% и 31,5% больных при ЦПС и ГЦКС соответственно, $p < 0,05$; 52,0% и 23,5% больных при ЦПВ и ГЦКВ соответственно, $p < 0,05$).

Клинические проявления ЦП и ГЦК, ассоциированных с HCV и HBV, в основном были обусловлены декомпенсированным циррозом печени, проявлявшимся портальной гипертензией вплоть до развития отечно-асцитического синдрома с анасаркой, а также проявлениями хронической печеночной недостаточности и геморрагического синдрома. Астенический и диспептический синдромы были характерными как для больных ХГ, так и ЦП и ГЦК вне зависимости от этиологии.

Анализ изменений биохимических показателей, характеризующих функциональное состояние печени в зависимости от этиологии и нозологической формы (ХГ, ЦП, ГЦК), несмотря на одинаковую выраженность гистологической активности патологического процесса (умеренный и высокий ИГА по Knodell), у больных из разных групп показал значимые отличия в зависимости от этиологии только у больных ХГ. Так, у больных ХГС с умеренной и высокой гистологической активностью среднее содержание общего билирубина в сыворотке крови было значительно ниже, чем у больных ХГВ с такой же гистологической активностью ($21,1 \pm 16,71$ мкмоль/л против $76,28 \pm 19,7$ мкмоль/л соответственно, $p < 0,05$). Среднее содержание общего билирубина в группах больных ЦП и ГЦК, не отличаясь в зависимости от этиологии патологического процесса, было существенно выше, чем в группах больных ХГ ($p < 0,05$). Выраженность повреждения гепатоцитов, характеризующаяся уровнем активности АлАт в сыворотке крови, была выше у больных ХГВ ($627,2 \pm 223,1$ ед./л), чем у больных ХГС

(173,98±135,87 ед./л) при одинаковой гистологической активности (ИГА по Knodell от 9 до 18 баллов). Аналогичная картина наблюдалась и у больных ЦП, когда средний показатель активности АлАт в сыворотке крови у больных ЦПВ был значительно выше, чем у больных ЦПС (248,4±95,0 ед./л против 85,89±72,71 ед./л соответственно, $p<0,05$). Обращает на себя внимание несоответствие уровня повреждения гепатоцитов, определяемого по выраженности цитолитического синдрома структурным изменениям в паренхиме печени, определяемым по выраженности гистологической активности. При одинаково высоком уровне гистологической активности (ИГА по Knodell от 9 до 18 баллов) выраженность цитолитического синдрома у больных ХГ была достоверно выше, чем у больных ЦП и ГЦК. Полученные нами данные противоречат сведениям W.K. Seto (2012) [376], свидетельствующим об отсутствии статистически значимых отличий выраженности цитолитического синдрома в зависимости от стадии хронической HBV-инфекции, что, возможно, обусловлено характером формирования групп больных ХГВ, без учета сопоставимой гистологической активности. В то же время, по мнению некоторых исследователей, выраженность цитолитического синдрома может зависеть от множества, в том числе и трудно учитываемых, факторов [7].

При этом синтетическая функция печени, оцениваемая по содержанию общего белка и протромбиновому индексу, оставалась сохранной у больных ХГС и ХГВ, но имела тенденцию к снижению или была снижена у пациентов с декомпенсированным ЦПС ($p<0,05$) и ЦПВ ($p<0,05$), а также у пациентов с ГЦКС ($p<0,05$) и ГЦКВ ($p<0,05$). Внутривнутрипеченочный холестаза, характеризующийся активностью ЩФ в сыворотке крови, был характерен для больных ХГВ с умеренным и высоким ИГА с достоверным превышением этого показателя по сравнению с больными ХГС ($p<0,05$). У больных ЦП отмечалось нарастание внутривнутрипеченочного холестаза ($p<0,05$), достигая максимума у пациентов с ГЦК ($p<0,05$), при этом, на этапе ЦП и ГЦК

этиологический фактор не влиял на величину этого показателя. Больные ЦП и ГЦК, ассоциированных с HCV и HBV, характеризовались, в отличие от больных ХГС и ХГВ ($p < 0,05$), гиперкреатинемией, отражающей тяжесть почечной недостаточности. Почечная недостаточность у этих пациентов была обусловлена как сопутствующей соматической патологией преимущественно в виде атеро- и артериолосклеротического нефросклероза, так и выраженной интоксикацией, обусловленной гнойными осложнениями декомпенсированного ЦП. Для больных, умерших от ЦП и ГЦК, в отличие от больных ХГ ($p < 0,05$) была характерна анемия, обусловленная как естественным течением основного заболевания, так и его осложнениями. Длительное течение ХГ с трансформацией в ЦП и ГЦК характеризовалось развитием относительной лимфопении со снижением относительного содержания лимфоцитов в крови у больных ЦПС и ЦПВ по сравнению с больными ХГ ($p < 0,05$), а также у больных ГЦКС и ГЦКВ по сравнению с больными ХГ ($p < 0,05$). Вопреки данным Е.А. Путиловой (2011) [131], нами не получено данных о выраженной лимфопении у больных ХГВ и ХГС. Такие же результаты были получены М.С. Сельковой с соавторами (2012) [144], опубликовавшими данные об отсутствии зависимости содержания Т-лимфоцитов в крови от генотипа HCV и величины вирусной нагрузки.

Таким образом, сравнительный анализ эпидемиологических, клинических и лабораторных особенностей естественного течения ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HCV и HBV показал существенные различия изучаемых показателей в зависимости от этиологии и нозологической формы, а также несоответствие ряда клинико-лабораторных показателей структурным изменениям в печени. ХГ наблюдался у лиц молодого возраста, больные переносили и погибали от ЦП и ГЦК в значительно более старшем возрасте. Наши данные свидетельствуют о значительно более коротких сроках развития цирроза печени у больных ХГС по сравнению с больными ХГВ. Продолжительность жизни больных ЦПС была в среднем на 20 лет меньше,

чем больных ЦПВ, что свидетельствует о более быстрой прогрессии ЦП при HCV-инфекции. Вместе с тем, учитывая значительно меньшую продолжительность жизни больных ГЦКВ по сравнению с продолжительностью жизни больных ГЦКС, можно предполагать более ранний и быстро развивающийся процесс гепатоканцерогенеза при HBV-инфекции. Хроническая HBV- и HCV-инфекция характеризуется малосимптомным течением, особенно на этапе ЦП и ГЦК, манифестируется в стадии декомпенсации ЦП ее проявлениями.

Выраженность цитолитического синдрома, являющегося клинико-лабораторным критерием степени повреждения гепатоцитов, отчасти, отражает структурные изменения в печени лишь на этапе ХГ, для которого, несмотря на тяжесть поражения паренхимы печени не были характерны признаки печеночной недостаточности, тогда как на этапе ЦП и ГЦК отмечается несоответствие гистологической активности гепатита и выраженности цитолитического синдрома при наличии клинико-лабораторных проявлений печеночной недостаточности. Косвенным подтверждением этому могут служить данные, полученные Т. Göbel с соавторами в 2011 году [264], согласно которым у пациентов с нормальными показателями активности АлАт риск развития цирроза зависел от уровня ГГТП в сыворотке крови.

Анализ причин смерти у больных ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV показал общность патогенетических механизмов, приводящих при естественном течении хронической HBV- и HCV-инфекции к формированию ЦП и ГЦК и посредством развития несовместимых с жизнью осложнений, преимущественно ЦП – к смерти. Наиболее значимой в танатогенезе является декомпенсация ЦП в виде проявлений портальной гипертензии, обусловленной прогрессирующим фиброзом печени (у 58,1% больных, умерших от ЦПС и 68,1% больных, умерших от ЦПВ, $p > 0,05$) преимущественно в виде портальных кровотечений и портальной

интестинопатии. Наши данные, совпадающие с данными исследователей [50, 92, 108, 148], свидетельствуют о важной патогенетической и танатогенетической роли синдрома избыточного бактериального роста и дисбиоза кишечника у больных ЦП. В сочетании с портальной гипертензией, эти патологические состояния, посредством формирования обратимой, а позже необратимой стадий портальной интестинопатии, являлись причиной смерти у части больных ЦП и ГЦК. У больных ГЦК портальная гипертензия, обусловленная декомпенсированным ЦП, на фоне которого развилась опухоль, также была значимой в танатогенезе - от проявлений портальной гипертензии, усугубленной опухолевыми разрастаниями в печени погибли 52,9% больных ГЦКС и 36,8% больных ГЦКВ ($p>0,05$).

7.2 Повреждение и регенерация печени при хронической HBV- и HCV-инфекции

В настоящее время большинство исследователей рассматривают повреждение гепатоцитов при ХГВ и ХГС как иммунопатологический процесс, реализующийся в результате сложного клеточного иммунного ответа с вовлечением различных популяций клеток лимфоидного ряда, а наиболее частым и значимым механизмом гибели гепатоцитов признается апоптоз [8, 144, 150, 305, 339, 358]. Имеются данные о нарастании уровня аутоантител в сыворотке крови у больных хроническими вирусными гепатитами В и С [13, 68]. При хронической HBV- и HCV-инфекции противовирусный иммунитет, направленный на нейтрализацию и элиминацию возбудителя путем клеточно-опосредованного апоптоза инфицированных гепатоцитов, к счастью, у большинства больных острыми вирусными гепатитами В и С приводит к элиминации возбудителя и выздоровлению, однако у части из них может приводить к развитию иммунопатологических реакций, лежащих в основе хронического гепатита с

персистированием гепатотропного вируса и постоянным повреждением гепатоцитов. Повреждение гепатоцитов в ходе реализации иммунопатологического процесса влечет за собой регенерацию паренхиматозных клеток, адекватность которой обеспечивает необходимую для сохранения функции органа в целом численность их популяции. Таким образом, соотношение повреждения и пролиферации гепатоцитов, составляющих сущность ХГ, определяет функциональное состояние печени в ходе естественного течения ХГВ и ХГС.

Обновление клеточного состава паренхимы печени в норме осуществляется путем клеточно-опосредованного апоптоза гепатоцитов и обеспечивается присутствием активированных цитотоксических лимфоцитов внутри печеночных долек. Исходя из этого, наличие немногочисленных лимфоцитов внутри печеночных долек является нормой. Одним из морфологических признаков ХГ является более интенсивная и неравномерная по сравнению с нормой лимфоцитарная внутридольковая инфильтрация. Состав лимфоцитарной внутридольковой инфильтрации при ХГ полиморфен, наиболее часто в него входят CD4- и CD8-позитивные Т-лимфоциты, В-лимфоциты и в значительном количестве НК. Макрофаги печени (купферовские клетки), являющиеся самой многочисленной популяцией резидентных мононуклеарных фагоцитов организма [72], представлены как в интактной печени, так и в условиях патологии.

У больных ХГС уровень абсолютного содержания лимфоцитов внутри печеночных долек в зависимости от гистологической активности гепатита превышал таковой у пациентов с ХГВ и имел тенденцию к возрастанию по мере увеличения тяжести процесса. Увеличение тяжести патологического процесса при ХГВ и ХГС сопровождалось нарастанием относительного содержания внутри печеночных долек CD8-позитивных лимфоцитов с их преобладанием при ХГС. Вместе с тем, крайне низкое относительное содержание CD4-позитивных лимфоцитов при ХГС не зависело от

гистологической активности гепатита и значительно отличалось как от контрольных показателей, так и от аналогичного показателя в группе больных ХГВ (Рисунок 15).

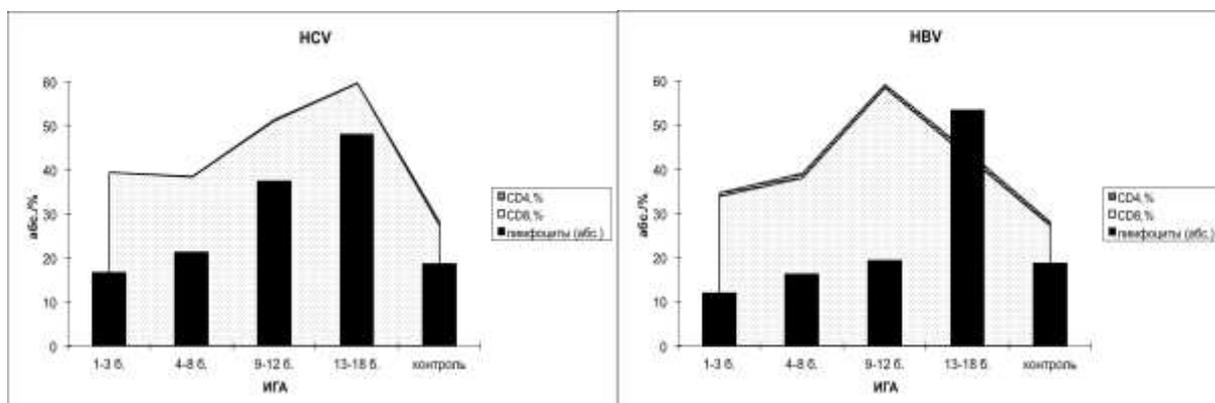


Рисунок 15 – Содержание лимфоцитов (абс.), их субпопуляций (%) в паренхиме печени у больных ХГВ и ХГС в зависимости тяжести патологического процесса (ИГА по Knodell)

Площадь, занимаемая CD68-позитивными макрофагами в паренхиме печени при ХГС, была значимо большей, чем у больных ХГВ.

При ХГВ содержание лимфоцитов внутри печеночных долек коррелировало с наличием у больных маркеров активной репликации вируса (HBsAg, ДНК HBV, $r=0,6$), выраженностью цитолитического синдрома ($r=0,7$) и степенью гистологической активности ($r=0,7$). Показатель площади, занимаемой внутрипеченочными макрофагами, находился в прямой зависимости от вирусной активности (при выявлении у больных HBsAg и HBcorAbIgM индекс корреляции составил соответственно 0,5 и 0,9), активности АлАТ и величины ИГА ($r=0,5$). Отмечена умеренная степень взаимосвязи между содержанием в ткани печени больных ХГВ лимфоцитов и макрофагов ($r=0,6$). Связи между количеством CD4- и CD8-позитивных лимфоцитов и анализируемыми лабораторными показателями нами не обнаружено. При ХГС экспрессия NS3HCV (маркера репликации вируса гепатита С) в гепатоцитах, имела слабую отрицательную связь с содержанием лимфоцитов внутри печеночных долек ($r=-0,36$), а также с гистологической активностью хронического гепатита ($r=-0,42$), но оказалась

не связанной с площадью, занимаемой макрофагами. Так же как и при ХГВ, при ХГС имеется высокая степень взаимосвязи между содержанием в ткани печени лимфоцитов и макрофагов ($r=0,72$), а также умеренная степень взаимосвязи между уровнем содержания лимфоцитов в паренхиме печени и степенью гистологической активности патологического процесса ($r=0,63$).

Наши данные о наличии положительной корреляционной зависимости вирусной нагрузки при хронической HBV-инфекции с возрастанием выраженности цитолитического синдрома и гистологической активностью гепатита, совпадают со сведениями, полученными другими исследователями [30, 224, 290], как и отрицательной корреляционной зависимости при хронической HCV-инфекции, когда снижение вирусной нагрузки сопровождалось возрастанием гистологической активности гепатита [74, 97], что объясняется незначительным прямым цитопатическим действием вируса гепатита С на гепатоциты [191]. Иллюстрацией отсутствия безусловной связи «инфицирование гепатоцита – гибель гепатоцита», а также клеточно-опосредованного иммунного механизма повреждения гепатоцитов является факт жизнеспособности части инфицированных гепатоцитов, наряду с иммунным повреждением инфицированных гепатоцитов (Рисунок 16 и 17).

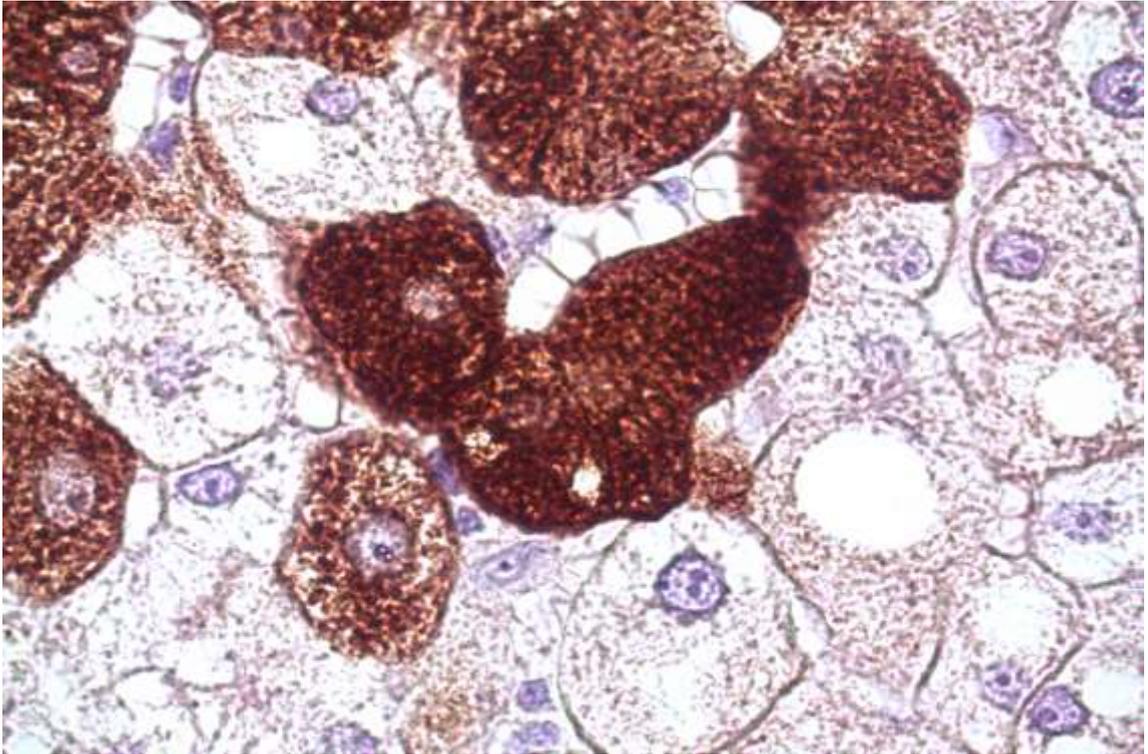


Рисунок 16 – Экспрессия HBsAg в цитоплазме гепатоцитов без признаков фатального повреждения у больного ХГВ. ИГХ метод, DAB. Ув.х400

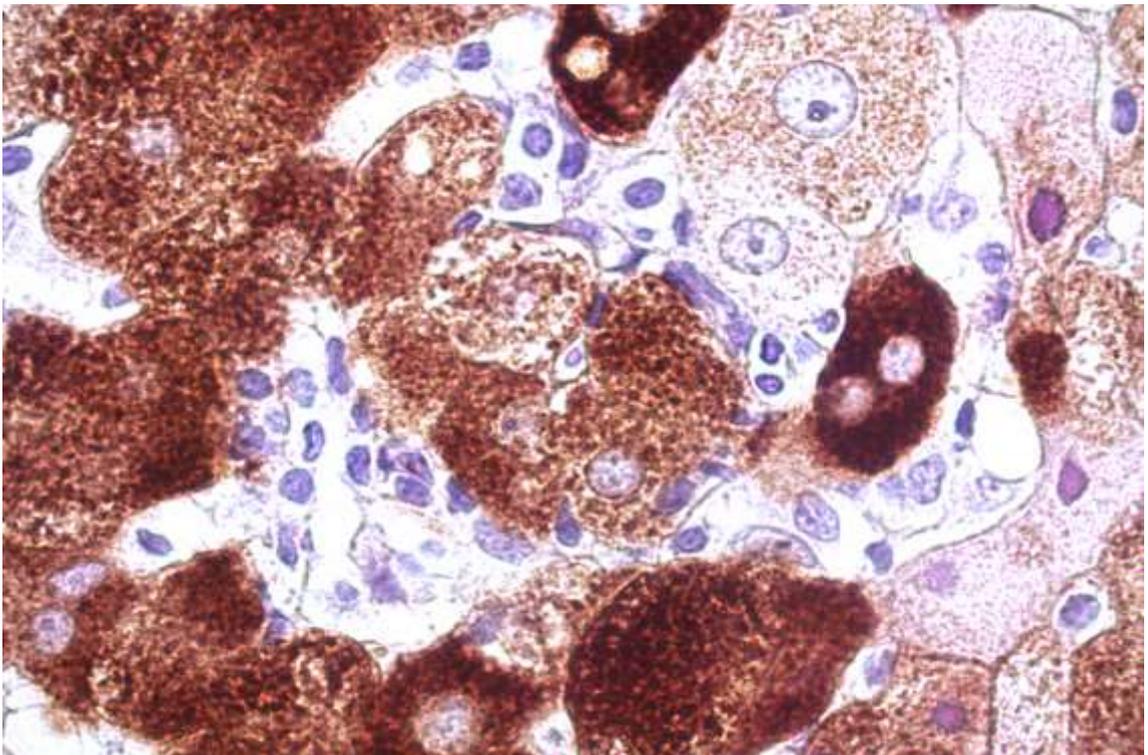


Рисунок 17 – Экспрессия HBsAg в цитоплазме группы дегенеративно измененных гепатоцитов, перифокальная лимфоцитарная инфильтрация у больного ХГВ. ИГХ метод, DAB. Ув.х400

По мере естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции содержание внутридолевых лимфоцитов имело тенденцию к снижению при сохраняющейся умеренной или высокой гистологической активности гепатита. Сопоставление показателей содержания в ткани печени больных ЦПВ и ЦПС лимфоцитов и их субпопуляций – CD4- и CD8-позитивных лимфоцитов, а также макрофагов с аналогичными показателями в ткани интактной печени выявило повышение количества Т-хелперов при ЦПВ ($7,16 \pm 3,27\%$ против $0,88 \pm 0,73\%$ в контроле, $p < 0,05$). При сравнении этих же параметров с составом лимфоцитарной инфильтрации паренхимы печени больных ХГ было отмечено значительно более низкое абсолютное содержание лимфоцитов в ткани печени больных ЦП ($12,83 \pm 3,2$ при ЦПВ и $37,71 \pm 7,61$ при ХГВ; $31,83 \pm 6,54$ при ЦПС и $41,18 \pm 4,80$ при ХГС, $p < 0,05$), Рисунок 18.

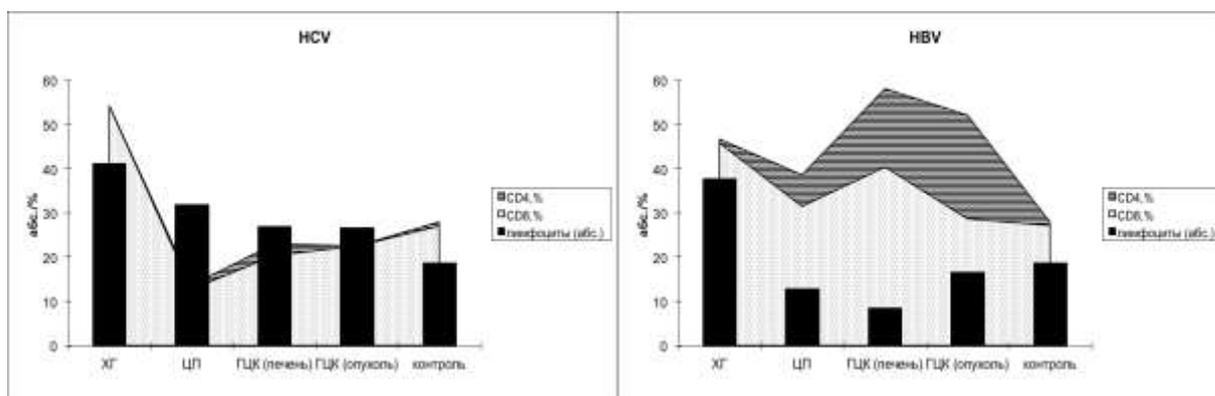


Рисунок 18 – Содержание лимфоцитов (абс.), их субпопуляций (%) в паренхиме печени у больных ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18)

Снижение содержания абсолютного количества лимфоцитов внутри печеночных долек при ЦПВ сопровождалось увеличением относительного содержания внутрипеченочных CD4-позитивных лимфоцитов ($7,16 \pm 3,27\%$ против $0,95 \pm 0,42\%$ при ХГВ, $p < 0,05$). Аналогичная тенденция, не достигая порога статистической значимости, наблюдалась и при ЦПС. Выявленное преобладание в цирротически измененной ткани печени Т-хелперов на фоне снижения общего числа лимфоцитов указывает на возникновение

выраженных сбоев в клеточном иммунном ответе больных декомпенсированным ЦП. Относительное содержание CD4-позитивных лимфоцитов в ткани печени, окружающей опухолевые разрастания у больных ГЦК было значительно выше, чем в интактной печени, а также чем в печени больных ЦП. При этом у больных ЦПВ уровень содержания CD4-позитивных лимфоцитов в паренхиме печени был достоверно выше, чем у больных ЦПС ($17,64 \pm 7,79\%$ у больных ЦПВ против $2,62 \pm 1,62\%$ у больных ЦПС, $p < 0,05$). В опухолевой ткани у больных ЦПС наблюдалось полное отсутствие этой субпопуляции лимфоцитов, тогда как у больных ЦПВ в опухоли было выявлено крайне высокое относительное содержание CD4-позитивных лимфоцитов ($23,40 \pm 7,13\%$).

Естественное течение хронической HBV-инфекции, в отличие от HCV-инфекции, характеризовалось нарастанием содержания CD4-позитивных лимфоцитов в паренхиме печени на всех этапах (ХГ, ЦП, ГЦК), достигая максимальных значений в опухолевой ткани при ГЦК. Паренхима печени у больных ГЦКВ характеризовалась более высоким относительным содержанием цитотоксических лимфоцитов ($p < 0,05$), а у больных ЦПВ в паренхиме печени содержалось относительно более чем в 2 раза больше CD8-позитивных лимфоцитов, чем у больных ЦПС. Инфильтрация стромы опухолевой ткани по сравнению с окружающей печеночной тканью была значительно менее выраженной у больных ГЦКВ и такой же у больных ГЦКС ($p > 0,05$).

Выявленные разнонаправленные тенденции содержания различных субпопуляций Т-лимфоцитов в паренхиме печени при хронической HBV- и HCV-инфекции, изменяющиеся по мере естественного течения, отражают выраженные дефекты Т-клеточного иммунного ответа при хронических гепатитах и согласуются с данными, полученными исследователями [21, 22, 74, 162]. Характер клеточной инфильтрации паренхимы печени, в состав которой входят среди прочих, цитотоксические лимфоциты и макрофаги,

свидетельствуют о наличии аутоагрессии [304], что совпадает с нашими представлениями о этом звене патогенеза хронической HBV- и HCV-инфекции.

Клеточный иммунный ответ играет ведущую роль не только в элиминации вируса, но и в патогенезе повреждения печени при вирусных гепатитах. Повреждение гепатоцитов при вирусном гепатите в значительной мере обусловлено апоптозом [99], с наиболее изученным, и, надо полагать, наиболее значимым механизмом его запуска путем связывания рецептора Fas (CD95), расположенного на поверхности клетки-мишени и Fas-лиганда (FasL), локализуемого на мембране активированных лимфоцитов. Наряду с проапоптозными, известны гены, блокирующие развитие апоптоза. К ним относится ген bcl-2, экспрессия которого на клетках обеспечивает защиту от многих форм апоптоза. Баланс проапоптозных и антиапоптозных факторов определяет судьбу клеток. Fas/FasL-опосредованный механизм запуска апоптоза клеток является универсальным и используется для регулирования количества различных клеточных популяций. Наряду с гепатоцитами, подверженными гибели путем апоптоза, запускаемого посредством цитотоксических лимфоцитов, гибель самих цитотоксических лимфоцитов из состава внутрипеченочных клеточных инфильтратов осуществляется аналогичным путем с использованием Fas/FasL- опосредованного механизма.

Высокое содержание FasL-позитивных лимфоцитов в здоровой ткани печени связано с необходимостью обеспечения иммунологической толерантности организма к пище. На малое количество лимфоцитов, экспрессирующих FasL в клеточном инфильтрате печени при ХГВ, также указывают Е.В. Дмитриева и соавторы [8]. По мнению этих авторов, лимфоциты при хронических вирусных гепатитах могут становиться объектом цитотоксического действия собственного FasL или FasL гепатоцитов.

Также возможно, что некоторые кодируемые вирусом гепатита В белки обладают антиапоптозной активностью и попадание его в клетку приводит к нарушению механизмов нормальной регуляции апоптоза и/или к дефектам функции цитотоксических лимфоцитов. Известно, что вирусы гепатита часто приводят к формированию иммунодефицита вследствие внутриклеточного паразитирования в иммунокомпетентных клетках и индукции чрезмерной продукции ряда цитокинов, приводящих к нарушениям иммунорегуляции и апоптоза [8, 24]. Имеющиеся данные свидетельствуют о наличии растворимых форм FasL, что не предполагает необходимость непосредственного контакта клетки, несущей на своей поверхности Fas с клеткой-мишенью, то есть для развития апоптоза гепатоцита клеточное звено запуска этого процесса не обязательно [24, 54]. В таком случае можно ожидать преимущественно макрофагальный характер клеточной инфильтрации внутри печеночной дольки, осуществляющей элиминацию погибших путем апоптоза гепатоцитов. Процесс апоптоза до некоторой степени обратим, наиболее изученным в настоящее время блокатором апоптоза является bcl-2, который может экспрессироваться в различных популяциях клеток, например в клетках билиарного эпителия в норме, защищая их от гибели путем апоптоза. Таким образом, наличие лимфоцитарной инфильтрации внутри печеночных долек не всегда влечет за собой необратимое повреждение гепатоцитов, вызванное апоптозом. Обладая bcl-2-подобным действием [279, 281, 287, 313], вирус гепатита С, обычно инфицируя большое количество гепатоцитов, не приводит к их фатальной массовой гибели, чем, по всей видимости, и объясняется крайняя редкость фульминантных форм острого гепатита С с летальным исходом.

Экспрессия проапоптозных Fas и FasL и противоапоптозного bcl-2 на поверхности внутридольковых лимфоцитов носила неравномерный характер в зависимости от этиологии, фазы инфекционного процесса и гистологической активности ХГ. Для повышения информативности

полученных показателей нами был проведен расчет отношения FasL к Fas (индекс Fas, IndF) и к bcl-2 (IF/bcl) [184]. Величина этих отношений, или индекс потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу (IFbcl) характеризует наличие необходимых для запуска процесса апоптоза Fas/FasL факторов; высокий показатель этого интегрального параметра предполагает наличие необходимых условий для запуска процесса апоптоза и высокую вероятность его начала. Низкий показатель IFbcl характеризует низкую вероятность запуска процесса апоптоза.

Анализ экспрессии проапоптозных Fas и FasL и противоапоптозного bcl-2 на поверхности внутридольковых лимфоцитов показал, что для больных ХГВ с минимальной выраженностью патологического процесса характерна наиболее высокая экспрессия Fas и наиболее низкая – FasL на поверхности внутридольковых лимфоцитов, нормальное содержание bcl-2-позитивных лимфоцитов и низкий индекс потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу. Для больных ХГС с минимальной гистологической активностью гепатита характерна высокая экспрессия как Fas, так и FasL при снижении содержания внутридольковых лимфоцитов, экспрессирующих bcl-2, и как следствие – повышение показателя индекса потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу.

Больные ХГВ с выраженной тяжестью патологического процесса в печени отличались умеренным повышением экспрессии Fas, тенденцией к увеличению экспрессии FasL, сниженным содержанием bcl-2-позитивных внутридольковых лимфоцитов, но при этом наиболее низкой степенью готовности лимфоцитов к апоптозу. Для больных ХГС с высокой гистологической активностью характерно увеличение показателей экспрессии Fas и FasL при снижении экспрессии bcl-2 на поверхности внутривнутрипеченочных лимфоцитов при сохранении в пределах нормальных показателей показателя потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу.

Наличие прямой корреляционной связи величин IndF и IF/bcl с показателями экспрессии FasL на поверхности внутридольковых лимфоцитов и между собой ($r=0,83$; $0,63$ и $0,73$) и обратной связи IF/bcl с показателем экспрессии bcl-2 ($r=-0,61$) при ХГВ, в целом, свидетельствует о сопряженности этих процессов. При ХГС, наряду с наличием умеренных корреляционных связей показателей IndF с FasL ($r=0,4$) и IndF с IF/bcl ($r=0,52$), взаимосвязь между индексом готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу и экспрессией FasL на поверхности лимфоцитов отсутствует ($r=0,002$), что демонстрирует разные патогенетические механизмы апоптоза при этих нозологических формах.

Проведенный сравнительный анализ выраженности и характера клеточной инфильтрации в паренхиме печени и функционального состояния внутридольковых лимфоцитов при ХГС и ХГВ в зависимости от фазы вирусной активности при ХГВ и выраженности экспрессии NS3HCV в ткани печени при ХГС, выраженности цитолитического синдрома, отражающего степень повреждения гепатоцитов, а также от гистологической активности хронического гепатита показал значительные различия в направленности и выраженности изменений указанных показателей в зависимости от этиологии, что несомненно свидетельствует о различных патогенетических механизмах его естественного течения. Высокая вирусная активность при ХГВ, документируемая прямыми – в виде выявления ДНК HBV в ткани печени, и косвенными – в виде выявления в крови серологических маркеров активации вирусного процесса свидетельствами, сопровождается увеличением интенсивности внутридольковой лимфоцитарной инфильтрации с нарастанием доли CD8-позитивных лимфоцитов и внутридольковой макрофагальной активности, выражающейся в увеличении площади, занимаемой CD68-позитивными макрофагами. Напротив, такой эффект при ХГС наблюдается при наличии меньшей распространенности инфицирования гепатоцитов в виде низкого содержания в паренхиме печени NS3HCV-

позитивных гепатоцитов. Важнейшей патогенетической особенностью ХГС является закономерное постоянное снижение относительного содержания CD4-позитивных лимфоцитов внутри печеночных долек, вплоть до полного их отсутствия по сравнению с группой ХГВ и контрольных показателей – вне зависимости от степени инфицированности гепатоцитов, уровня повреждения гепатоцитов, отражаемого уровнем цитолитического синдрома и выраженностью гистологической активности патологического процесса. По мнению И.О. Наследникова и соавторов (2005) [48], изменение соотношения CD4/CD8 в ходе клеточного иммунного ответа является признаком неблагоприятного течения ХГ, то есть CD4-клеточная лимфопения у больных хронической HCV-инфекцией отражает неблагоприятное течение как ХГ, так и ЦП.

Сравнение функционального состояния внутридольковых лимфоцитов, оцениваемого по соотношению проапоптозных и противоапоптозного факторов, экспрессированных на их поверхности, при разнонаправленности экспрессии отдельных факторов, показало тенденцию к более высокой потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу при ХГС, чем при ХГВ. Сложные многофакторные процессы экспрессии про- и противоапоптозного факторов на поверхности внутридольковых лимфоцитов при ХГС и ХГВ в условиях различного уровня повреждения гепатоцитов, отражаемого выраженностью цитолитического синдрома и гистологической активности хронического гепатита, проявлялись в разнонаправленных тенденциях потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу, что свидетельствует о сложности регуляции иммунопатологических процессов в паренхиме печени.

Данные, полученные нами, косвенно подтверждаются результатами исследований последних лет. В частности, Y. Kondo и соавторы (2011) [311] указывают на наличие различного популяционного состава с разной функциональной активностью Т-клеточного звена иммунитета при ХГС. S.

Yamazaki и соавторы (2011) [393] показали способность Т-лимфоцитов угнетать функциональную активность цитотоксических лимфоцитов, то есть при выраженной CD4-лимфопении в паренхиме печени, значительно возрастает агрессивность цитотоксических лимфоцитов, и патологический процесс, по мнению некоторых исследователей, приобретает характер выраженной аутоагрессии [87, 124].

Повреждение гепатоцитов закономерно сопровождается их регенераторной пролиферацией, наблюдаемой и у больных ХГВ и у больных ХГС. Проллиферация гепатоцитов, определяемая по экспрессии Ki67, достоверно возросла по мере нарастания повреждения гепатоцитов и при максимальном повреждении была более выражена у больных ХГВ (Рисунок 19).

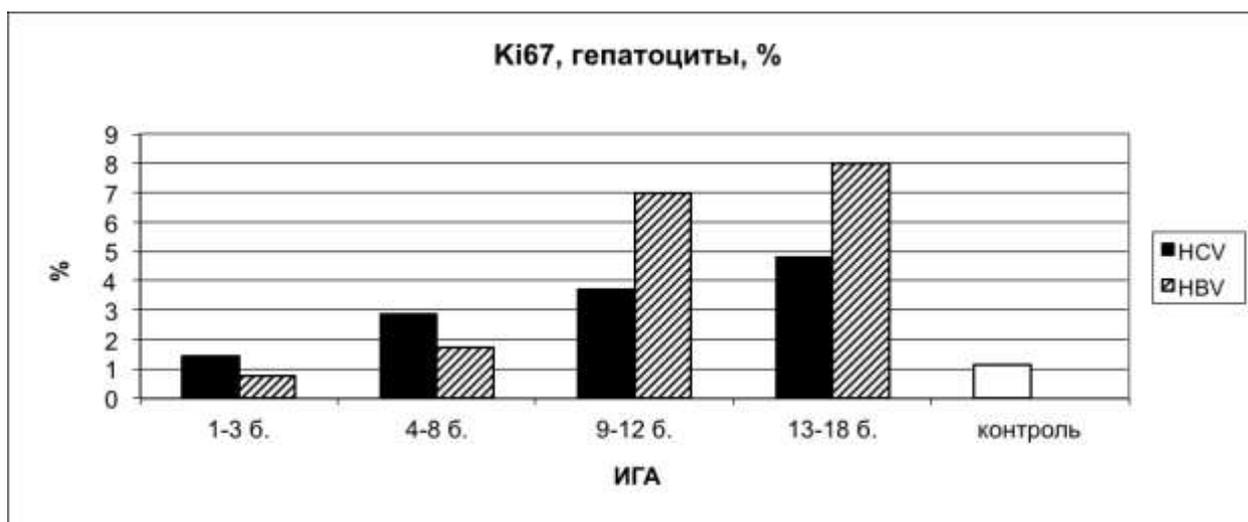


Рисунок 19 – Проллиферативная активность гепатоцитов у больных ХГВ и ХГС в зависимости от тяжести патологического процесса (ИГА по Knodell)

Возрастание пролиферативной активности гепатоцитов по мере увеличения степени их повреждения сопровождалось нарастанием пролиферативной активности полиморфной популяции синусоидных клеток, также более выраженной у больных ХГВ, и обуславливало сохранение функции печени в целом на этапе ХГ хронической HBV- и HCV-инфекции, даже несмотря на выраженное повреждение.

Уровень пролиферативной активности гепатоцитов при декомпенсированном ЦП, несмотря на выраженное повреждение (ИГА по

Knodell от 9 до 18 баллов), при ЦПВ не превышал аналогичный показатель в интактной печени, а при ЦПС он был существенно ниже по сравнению с этим показателем в группе больных ЦПВ и в контрольной группе ($1,13 \pm 0,58\%$ при ЦПВ, $0,39 \pm 0,24\%$ при ЦПС $p < 0,05$ и $1,14 \pm 0,57\%$ в контрольной группе, $p < 0,05$), Рисунок 20.

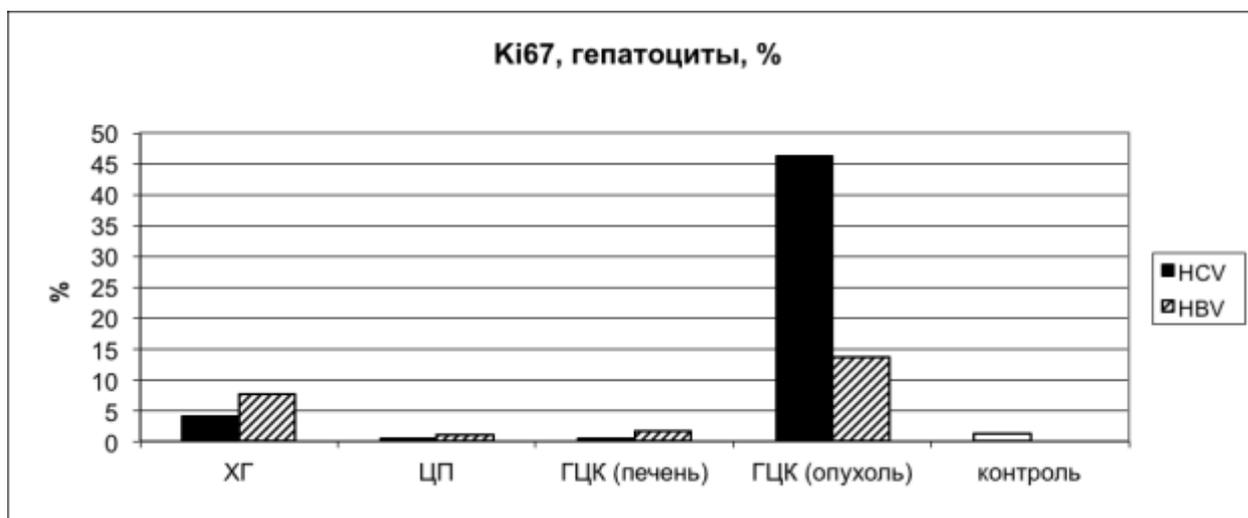


Рисунок 20 – Пролиферативная активность гепатоцитов у больных ХГ, ЦП, гепатоцитов и клеток опухоли у больных ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности патологического процесса (ИГА 9–18)

Низкая регенераторная способность паренхимы печени в условиях сохраняющегося повреждения при декомпенсированном ЦП являлась причиной нарастания печеночной недостаточности при прогрессирующем повреждении. И на этапе ХГ и на этапе ЦП более высокая пролиферативная активность гепатоцитов была характерна для HBV-инфекции. Пролиферативная активность гепатоцитов у больных ГЦКВ была выше, чем у больных ГЦКС ($1,65 \pm 0,55\%$ у больных ГЦКВ против $0,49 \pm 0,42\%$ у больных ГЦКС, $p < 0,05$). Опухолевые клетки характеризовались закономерно более высокой пролиферативной активностью, отражающей выраженность злокачественного потенциала опухоли, со значительным преобладанием этого показателя у больных ГЦКС ($46,11 \pm 6,82\%$ у больных ГЦКС против $13,7 \pm 3,97\%$ у больных ГЦКВ, $p < 0,05$).

Низкий показатель пролиферативной активности гепатоцитов, отражающий выраженность регенераторной пролиферации паренхимы

печени в условиях сохраняющейся умеренной или высокой гистологической активности процесса у больных с декомпенсированным ЦП и схожей морфологической картиной, в зависимости от этиологии показывает различную степень нарушения регуляторных механизмов клеточно-опосредованного повреждения. У больных ЦПВ высокая готовность внутридольковых лимфоцитов к апоптозу влечет за собой снижение их функции и уровня клеточно-опосредованного повреждения, что приводит к уменьшению выраженности цитолитиза (по сравнению с больными ХГВ) и пролиферативной активности гепатоцитов при сохраняющейся высокой гистологической активности. Низкая потенциальная готовность внутридольковых лимфоцитов к апоптозу у больных ЦПС, которая должна была бы привести к возрастанию клеточно-опосредованного повреждения и нарастанию выраженности цитолитического синдрома, у больных ЦПС, ввиду более низкого уровня относительного содержания цитотоксических лимфоцитов внутри печеночных долек, не приводит к нарастанию выраженности цитолитического синдрома и сопровождается низкой регенераторной пролиферацией гепатоцитов. Таким образом, сходные морфологические проявления при декомпенсированном ЦП разной этиологии при различном функциональном состоянии структурных элементов, принимающих участие в клеточно-опосредованном повреждении гепатоцитов, могут иметь различные последствия и, в свою очередь, вызывать неадекватную (низкую) компенсаторную регенераторную реакцию паренхимы печени, влекущую прогрессирование печеночной недостаточности.

Ткань печени при ГЦК, развивающейся при состоявшейся цирротической трансформации органа и являющейся закономерным исходом ЦП при естественном течении хронической HBV- и HCV-инфекции, имеет типичные макроскопические и микроскопические морфологические изменения, характерные для ЦП. Вместе с тем, являясь самостоятельной нозологической

формой, ГЦК и окружающая ее печеночная ткань обладает некоторыми морфологическими особенностями, возможно, обуславливающими развитие неоплазии. Вопросы молекулярного патогенеза опухолей вообще и гепатоцеллюлярной карциномы в частности подробно изучены [6] и не входили в задачи настоящего исследования.

Нами показано, что больных ГЦКВ относительно высокая готовность внутридольковых лимфоцитов к апоптозу влечёт за собой снижение их функционального состояния, но учитывая значительно более высокий уровень относительного содержания CD8-позитивных лимфоцитов в паренхиме, не приводит к снижению выраженности клеточно-опосредованного повреждения, проявляющегося в сохранении цитолитической активности. Больные же ГЦКС со значительно более низким показателем потенциальной готовности лимфоцитов к апоптозу ($p < 0,05$), но значительно меньшим относительным содержанием цитотоксических лимфоцитов в паренхиме печени, характеризовались меньшей степенью повреждения гепатоцитов, проявляющейся в значительно менее выраженном уровне цитолитического синдрома. Проллиферативная активность гепатоцитов, в целом неадекватно низкая при сохраняющемся высоком уровне повреждения гепатоцитов, у больных ГЦКВ с более высоким уровнем цитолиза оказалась существенно выше пролиферативной активности гепатоцитов у больных ГЦКС с более низким уровнем цитолиза ($109,4 \pm 20,3$ ед./л. у больных ГЦКВ против $37,67 \pm 9,02$ ед./л у больных ГЦКС, $p < 0,05$). Потенциальная готовность тканевых лимфоцитов, расположенных в опухолевой ткани к апоптозу, учитывая крайне низкий уровень экспрессии bcl-2 на их поверхности, по всей видимости, является высокой, что может отчасти объяснить несостоятельность клеточной противоопухолевой защиты и прогрессирование опухолевого роста с высокими показателями пролиферативной активности, более высокими у больных ГЦКС ($p < 0,05$).

Естественное течение хронической HBV- и HCV-инфекции, обусловленное персистенцией гепатотропного вируса, по мнению большинства исследователей, осуществляется посредством постоянного повреждения гепатоцитов, по всей видимости, преимущественно клеточно-опосредованным путем. Каждый из этапов естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции характеризуется различной морфологической картиной, определяемой различными патогенетическими механизмами, общим важнейшим из которых является клеточное иммунное воспаление с сохраняющимся клеточно-опосредованным повреждением гепатоцитов. На этапе ХГ в паренхиме печени наблюдается наибольшее содержание внутридольковых лимфоцитов, в том числе CD8-позитивных лимфоцитов, принимающих непосредственное участие в иммунном клеточно-опосредованном повреждении гепатоцитов. Возрастание внутридольковой лимфоцитарной инфильтрации на этапе ХГ сопровождается повышением показателей цитолитического синдрома, свидетельствующего о нарастании повреждения гепатоцитов. Несоответствие схожих морфологических изменений, отражаемых индексом гистологической активности, различному уровню цитолитического синдрома у больных ХГВ и ХГС обусловлено различным функциональным состоянием внутридольковых лимфоцитов в паренхиме печени, экспрессирующих проапоптозные и противоапоптозные факторы, соотношение которых отражает потенциальную готовность самих внутридольковых лимфоцитов к апоптозу. То есть регуляция клеточно-опосредованного повреждения гепатоцитов осуществляется в том числе и посредством изменения функциональных свойств элементов клеточного звена иммунитета. Сопоставимая гистологическая активность, определяемая, в том числе, и по степени выраженности внутридольковой лимфоцитарной инфильтрации при ЦП и ГЦК, не приводит к развитию той степени выраженности цитолитического синдрома, которая характерна для ХГ, что обусловлено

состоянием внутридольковых лимфоцитов, имеющих более высокую степень готовности к апоптозу, и, соответственно, меньшую степень вероятности реализации клеточно-опосредованного повреждения гепатоцитов. Таким образом, морфологическая картина может не соответствовать истинной выраженности повреждения гепатоцитов, что обусловлено функциональными особенностями внутридольковых лимфоцитов. Различный патогенез хронической HBV- и HCV-инфекции иллюстрируется разным относительным содержанием субпопуляций лимфоцитов в паренхиме печени, в частности, для всех этапов хронической HCV-инфекции характерна внутридольковая CD4-клеточная «лимфопения», свидетельствующая о выраженных нарушениях местного клеточного иммунного ответа. Постоянное повреждение гепатоцитов, лежащее в основе всех этапов хронической HBV- и HCV-инфекции, приводит к их регенераторной пролиферации как типовой компенсаторной реакции, обеспечивающей на этапе ХГ сохранение популяции паренхиматозных клеток и функции органа в целом, возрастая при нарастании повреждения. На этапе же декомпенсированного ЦП и ГЦК, характеризующихся низкой пролиферативной активностью гепатоцитов при сохраняющемся высоком уровне повреждения, происходит сокращение популяции паренхиматозных клеток и развитие печеночной недостаточности. Патогенетические особенности хронической HBV- и HCV-инфекции характеризуются значительно менее выраженной пролиферативной активностью гепатоцитов при хронической HCV-инфекции при сопоставимой гистологической активности. Крайней степенью выраженности патологической пролиферации характеризуется опухолевая ткань при ГЦК, строма которой демонстрирует разный в зависимости от этиологии, но несостоятельный местный клеточный иммунный ответ.

7.3 Фиброгенез при хронической HBV- и HCV-инфекции

Декомпенсированный ЦП, согласно общепринятой концепции, является одним из закономерно развивающихся этапов хронической HBV- и HCV-инфекции [54, 77]. Он является исходом ХГ и характеризуется избыточной продукцией коллагена и избыточным разрастанием соединительной ткани в печени с изменением ее нормального строения. Реализация патологического фиброгенеза в печени, представляющего собой универсальный процесс, формирует морфологическую основу клинических проявлений и осложнений терминальных стадий многих хронических заболеваний печени [220, 317]. Исходя из современных представлений о механизмах фиброгенеза при хронических диффузных заболеваниях печени, основная роль в продукции коллагена и прогрессировании фиброза печени принадлежит активированным звездчатым клеткам (stellate cells) [255, 275, 276, 360, 397]. По мнению большинства исследователей, лишь длительная активация звездчатых клеток приводит к запуску процесса патологического фиброгенеза и его прогрессированию [255, 275, 276, 360, 397]. Длительная активация звездчатых клеток осуществляется трансформирующим фактором TGF β , который продуцируется внутридольковыми CD68-позитивными макрофагами (клетками Купфера) при повышении их функциональной активности, в частности, при повреждении паренхимы печени [183, 217, 222, 274]. Длительное повреждение паренхимы печени, сопровождающееся пролиферацией макрофагального звена местного иммунного клеточного ответа на повреждение, приводит к повышению активности внутрипеченочных макрофагов, стимулирующих активацию звездчатых клеток и к прогрессированию фиброза печени. Вместе с тем, частота развития ЦП в исходе ХГ значительно выше при HCV-инфекции [336], что

при универсальности механизмов фиброгенеза обусловлено различными патогенетическими механизмами хронической HBV- и HCV-инфекции.

Многочисленными исследованиями показана значимость длительности течения ХГ, а также выраженности его гистологической активности в прогрессировании фиброза печени [77, 96]. Результаты наших исследований свидетельствуют о возможности более длительного, чем при ХГС течения ХГВ ($p=0,02$) без признаков начала процесса патологического фиброгенеза в печени при низкой гистологической активности гепатита, тогда как даже низкая гистологическая активность ХГС приводит к более быстрому наступлению ранних стадий фиброза печени в виде перипортального сегментарного фиброза, значительно чаще встречающегося у больных ХГС ($p<0,05$). Вместе с тем, дебют процесса фиброгенеза при нарастании гистологической активности хронического гепатита В наступает несколько раньше, чем у больных ХГС.

Наши исследования показали, что единые механизмы запуска патологического фиброгенеза, предусматривающие участие различных клеточных популяций непаренхиматозных клеток печеночной долики при естественном течении хронической HBV- и HCV-инфекции, имеют значительные отличия. Вне зависимости от этиологии патологического процесса запуск фиброгенеза связан с клеточно-опосредованным иммунным повреждением гепатоцитов с последующей реактивной пролиферацией непаренхиматозных клеток печени и закономерным повышением активности CD68-позитивных купферовских клеток. Они, помимо элиминации клеточного детрита активируют, звездчатые клетки путем выработки и экспрессии трансформирующего фактора TGF β [217, 222, 274].

Результатами наших исследований показано, что на этапе ХГ выраженность активации звездчатых клеток, определяемой по экспрессии α -SMA в паренхиме печени, была существенно выше при HCV-инфекции. Показано, что выраженность активации звездчатых клеток в паренхиме

печени у больных ХГ не зависит от активности сывороточной АлАт, а также от степени выраженности фиброза (ГИС) и гистологической активности ХГ (ИГА) у больных ХГВ. Лишь умеренная и высокая гистологическая активность гепатита у больных ХГС сопровождалась достоверным нарастанием выраженности активации звездчатых клеток ($p < 0,05$), Рисунок 21, что делает этот критерий прогностическим при оценке риска прогрессирования фиброза печени.

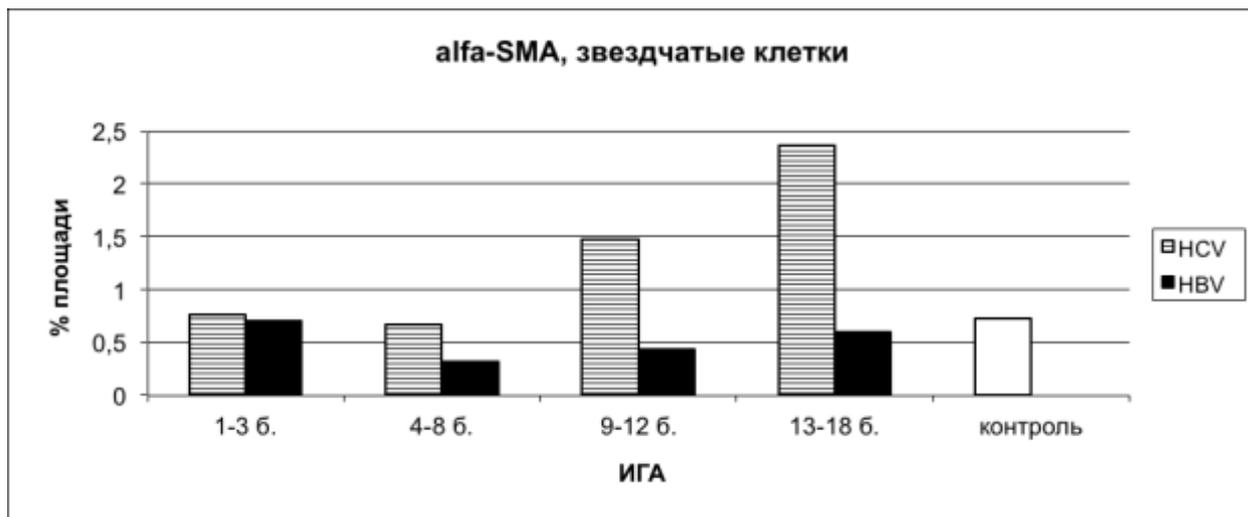


Рисунок 21 – Уровень экспрессии α -SMA в звездчатых клетках печени у больных ХГС и ХГВ в зависимости от гистологической активности

Сравнительный анализ выраженности активации звездчатых клеток у больных ХГ и декомпенсированным ЦП с одинаковой гистологической активностью (ИГА по Knodell от 9 до 18 баллов) при хронической HBV- и HCV-инфекции показал отсутствие отличий этого показателя при хронической HBV-инфекции. У больных ХГВ и ЦПВ с умеренной и высокой гистологической активностью выраженность активации звездчатых клеток в паренхиме печени была одинаковой. Хроническая HCV-инфекция при умеренной и высокой гистологической активности характеризовалась значительно более выраженной активацией звездчатых клеток печени у больных декомпенсированным ЦП ($p < 0,05$), Рисунок 22.

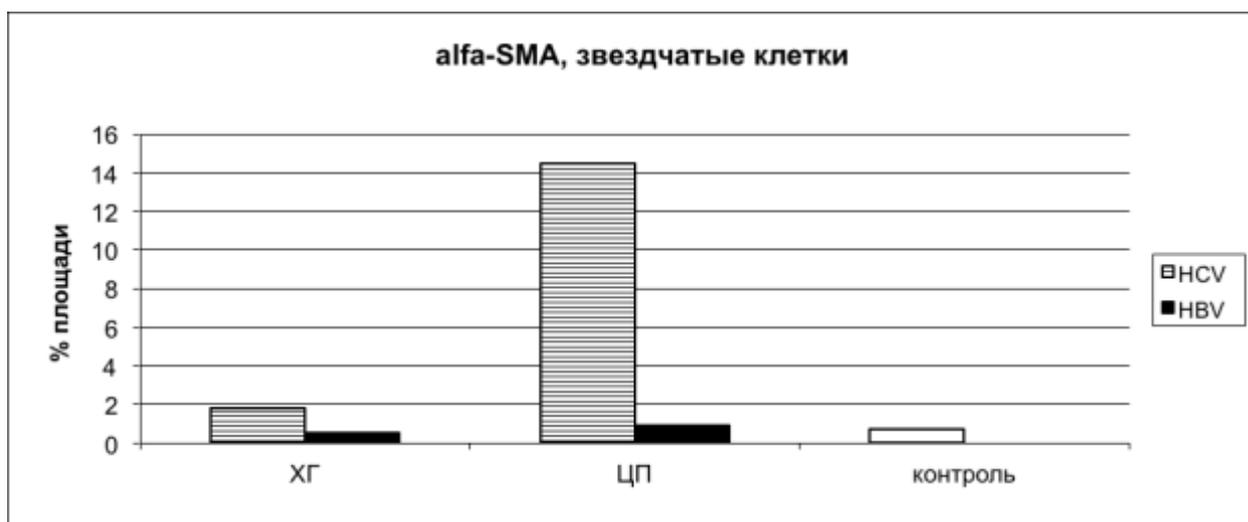


Рисунок 22 – Уровень экспрессии α -SMA в звездчатых клетках печени у больных ХГ и ЦП, ассоциированных с HBV и HCV при одинаковой активности процесса (ИГА 9-18 по Knodell)

Указанные особенности активации звездчатых клеток печени при хронической HCV-инфекции определяют большую частоту неблагоприятных исходов в виде более быстрого формирования ЦПС и его декомпенсации.

Особенности клеточно-опосредованного иммунного повреждения при хронической HBV- и HCV-инфекции приводят к различному уровню активации тканевых макрофагов, со значительно более высокими значениями этого показателя при хронической HCV-инфекции. На этапе ХГ у больных хронической HBV-инфекцией клеточно-опосредованное иммунное повреждение гепатоцитов, клинически в виде гиперферментемии, морфологически - в виде наличия мононуклеарной внутридольковой инфильтрации, вызывает увеличение числа и размеров CD68-позитивных купферовских клеток. Их пролиферация наиболее выражена при умеренной и высокой степени гистологической активности, и опосредованно обуславливает слабо выраженную активацию звездчатых клеток, которая напрямую не зависит от гистологической активности гепатита (ИГА по Knodell) и выраженности цитолитического синдрома, а также от степени выраженности фиброза (ГИС по Desmet). Длительное волнообразно прогрессирующее повреждение, характерное для ХГВ, постепенно приводит к увеличению выраженности фиброза, обусловленного избыточным синтезом

коллагена активированными звездчатыми клетками. Многолетнее волнообразное течение иммунного клеточно-опосредованного повреждения паренхимы печени и прогрессивно развивающийся фиброз приводят к развитию цирротической стадии ХГ. Декомпенсированный ЦПВ характеризуется низким уровнем активации звездчатых клеток, вероятно, с низкой продукцией коллагенов и более длительными сроками жизни этих пациентов. Повреждение паренхимы печени при ХГС характеризуются клинической скрытностью и несоответствием уровня выраженности цитолитического синдрома гистологической активности хронического гепатита, обусловленных высокой потенциальной готовностью внутридольковых лимфоцитов к апоптозу. Вместе с тем, более высокое чем при ХГВ содержание внутридольковых лимфоцитов у больных ХГС сопровождается более высоким содержанием CD68-позитивных макрофагов в паренхиме печени, что, в свою очередь, влечет за собой более высокий уровень активации звездчатых клеток, зависящий от гистологической активности, и не зависящий от уровня цитолитического синдрома, а также от степени выраженности фиброза.

Причина более высокого уровня содержания CD68-позитивных макрофагов в паренхиме печени при ХГС отчасти может быть объяснена результатами некоторых исследователей, отмечавших снижение содержания моноцитов периферической крови у больных ХГС по мере утяжеления патологического процесса [34], по всей видимости, за счет их миграции в паренхиму печени. Кроме того, требуют дальнейшего анализа и определения патогенетической роли сведения о возможности инфицирования HCV моноцитов периферической крови [237, 364].

Особенности фиброгенеза при хронической HCV-инфекции на этапе ХГ обуславливают значительно более выраженный и ранний фиброз печени при ХГС, прогрессирующий по мере увеличения гистологической активности гепатита со значительно более ранней, по сравнению с хронической HBV-

инфекцией, цирротизацией. Выраженная макрофагальная реакция при декомпенсированном ЦПС сопровождается крайне высоким показателем активации звездчатых клеток, что приводит к более выраженному синтезу коллагенов, к более выраженному прогрессированию цирротических изменений и сокращению продолжительности жизни этих пациентов.

Выявленные нами особенности экспрессии α -SMA в ядрах гепатоцитов у больных, стадия фиброза которых не достигла цирроза, требуют дальнейшего изучения.

Таким образом, результаты наших исследований большей частью совпадают с выводами исследователей, рассматривающих в качестве определяющих факторов развития патологического фиброза печени высокую вирусную нагрузку (при HBV-инфекции) [30], нарастание цитотоксической активности лимфоцитов [87, 393], повреждение гепатоцитов [100] с нарастанием цитолитического синдрома [81, 278, 280, 368], а также нарушение цитокиновой регуляции [182, 318].

Наши данные не совпадают с результатами исследований, авторы которых не отмечали влияния этиологии хронического гепатита на скорость развития фиброза печени, рассматривая его как типовой патологический процесс [67, 126]. Напротив, всецело принимая концепцию типового патологического процесса, нами подчеркиваются многочисленные особенности патологического фиброгенеза в печени, обусловленные разными гепатотропными вирусами.

7.4 Особенности повреждения, регенерации и фиброгенеза на разных этапах естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции

Исходя из концепции патогенетического единства различных нозологических форм, ХГ, ЦП и ГЦК являются этапами поступательно

развивающегося патологического процесса в печени в ходе естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции. Каждый из этапов единого процесса патогенетически обусловлен процессами повреждения паренхимы печени, ее регенерацией и сопровождается патологическим фиброгенезом. В свою очередь, каждое из патогенетических звеньев единого патологического процесса (повреждение, регенерация и фиброгенез), развивается и протекает в результате реализации разнонаправленных регуляторных механизмов. Эти важнейшие патогенетические звенья, в зависимости от этиологии патологического процесса, его этапа, преобладания одного или нескольких из них, и обуславливают клинические и морфологические проявления заболевания и определяют его прогноз и исход.

На этапе ХГ (Рисунок 23) морфологическая картина хронической HBV- и HCV-инфекции, при наличии схожих изменений, связанных с протекающими типовыми патологическими процессами в печени, имеет существенные отличия, что обусловлено как персистенцией в гепатоцитах различных гепатотропных вирусов, приводящих к качественно разным их изменениям, так и характером клеточно-опосредованного иммунного воспаления в строме и паренхиме органа с более высоким содержанием CD8-позитивных лимфоцитов внутри печеночных долек при ХГС при сопоставимой гистологической активности гепатита.

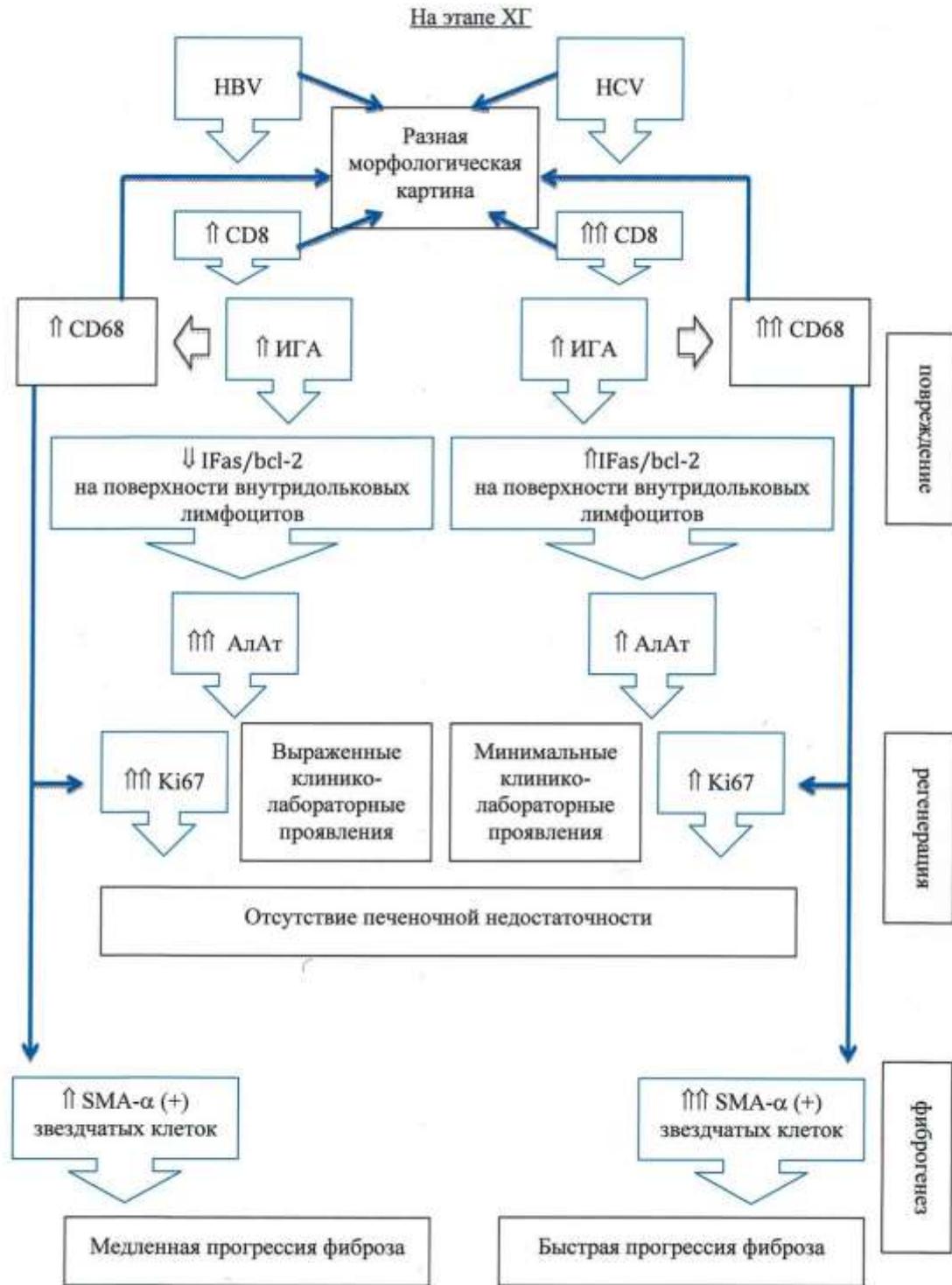


Рисунок 23 – Патогенетическая схема повреждения, регенерации и фиброгенеза печени на этапе ХГ хронической HBV- и HCV-инфекции

Более высокое содержание CD8-позитивных лимфоцитов в строме и перенхиме печени у больных ХГС обуславливает картину «повышенной клеточности» внутри печеночных долек и формирование фолликулоподобных скоплений лимфоцитов в строме портальных трактов в

печени у больных ХГС. Вместе с тем, наличие значительно более выраженной CD8-клеточной инфильтрации паренхимы печени у больных ХГС не приводит к ожидаемому нарастанию цитолитического синдрома при высокой гистологической активности гепатита. При сопоставимой высокой гистологической активности у больных ХГВ при меньшем содержании CD8-позитивных лимфоцитов в паренхиме печени наблюдается значительно более выраженный цитолиз. Такое несоответствие обусловлено разным функциональным состоянием внутридольковых лимфоцитов у больных ХГВ и ХГС. Потенциальная готовность внутридольковых лимфоцитов к апоптозу, определяемая по соотношению уровня экспрессии про- и противоапоптозных факторов на их поверхности, у больных ХГВ значительно ниже, чем у больных ХГС, то есть лимфоциты, расположенные в паренхиме печени у больных ХГС потенциально более подвержены гибели путем апоптоза, то есть функционально менее состоятельны.

Такие особенности повреждения на этапе ХГ естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции лежат в основе различных клинических проявлений ХГВ и ХГС и обуславливают скрытое течение ХГС, а также приводят к различной выраженности регенераторной пролиферации гепатоцитов, цитокиновая регуляция которой осуществляется тканевыми макрофагами. В целом, ХГ, с учетом особенностей, обусловленными его этиологией, характеризуется адекватной уровню повреждения регенераторной пролиферацией гепатоцитов, не приводящей к развитию печеночной недостаточности, тяжесть которой зависит от выраженности повреждения гепатоцитов.

Нарастание гистологической активности ХГ закономерно приводит к нарастанию популяции CD68-позитивных купферовских клеток в паренхиме печени, осуществляющих, наряду с другими функциями, элиминацию погибших гепатоцитов. Одинаковая гистологическая активность ХГ сопровождается более высоким содержанием CD68-позитивных макрофагов

в строме портальных трактов и внутри печеночных долек у больных ХГС при сопоставимой гистологической активности, что также приводит к формированию значительных отличий морфологической картины ХГС в виде наличия «цепочек», расположенных вдоль печеночных балок. Избыточное содержание CD68-позитивных макрофагов в паренхиме печени у больных ХГС, опосредованно, по всей видимости, через продукцию ими трансформирующего фактора TGF β , приводит к более выраженной активации звездчатых клеток, экспрессия SMA- α которыми свидетельствует о запуске процесса патологического фиброгенеза. Это обстоятельство объясняет значительно большую частоту и значительно более быструю прогрессию фиброза при ХГС.

На этапе декомпенсированного ЦП (Рисунок 24) гистологическая активность патологического процесса носит умеренный или тяжелый характер, клинико-биохимические (выраженность цитолитического синдрома) проявления заболевания выражены слабо, а морфологические особенности хронической HBV- и HCV-инфекции нивелируются. Вместе с тем, в основе видимых схожих проявлений ЦП, обусловленных HBV и HCV лежат разнонаправленные патогенетические механизмы. При одинаково высокой гистологической активности у больных ЦПВ и ЦПС наблюдается одинаково низкая выраженность цитолитического синдрома, несмотря на более высокий уровень содержания внутридольковых лимфоцитов в печени у больных ЦПС.

На этапе ЦП

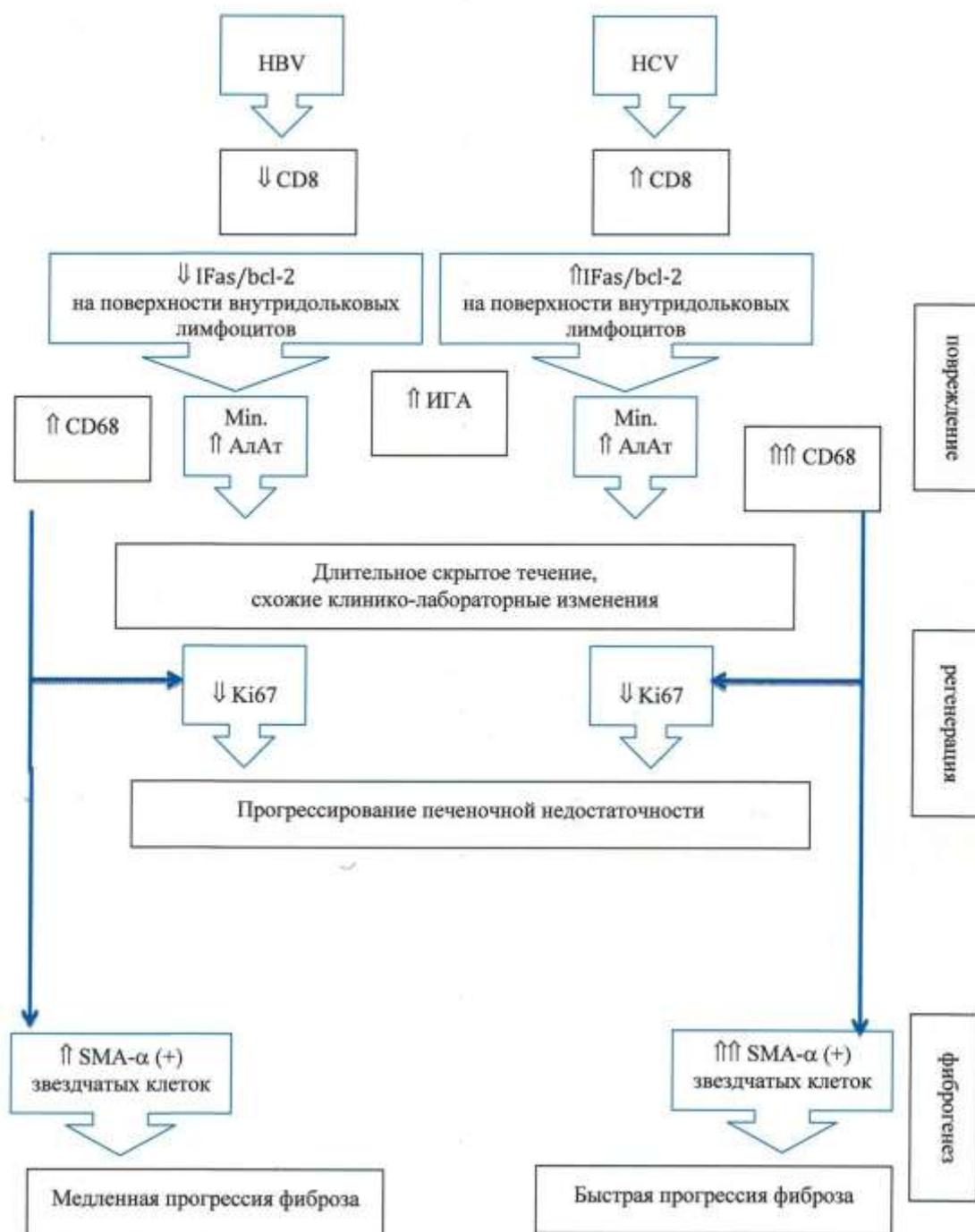


Рисунок 24 – Патогенетическая схема повреждения, регенерации и фиброгенеза печени на этапе ЦП хронической HBV- и HCV-инфекции

Такое несоответствие клинических, лабораторных и морфологических показателей обусловлено различным функциональным состоянием внутрипеченочных лимфоцитов, когда низкое содержание CD8-позитивных лимфоцитов в паренхиме печени у больных ЦПВ при низкой потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу (по соотношению про-

и антиапоптозного факторов на их поверхности) приводит к тем же видимым результатам, что и у больных ЦПС с высоким содержанием внутридольковых CD8-позитивных лимфоцитов и высокой степенью их потенциальной готовности к апоптозу.

Сохраняющееся повреждение паренхимы печени на этапе ЦП хронической HBV- и HCV-инфекции, в основе которого лежат разные патогенетические механизмы, обусловленные разными гепатотропными вирусами, в фазе декомпенсации приводит к истощению регенераторного потенциала печени с крайне низким показателем пролиферативной активности гепатоцитов и развитию прогрессирующей печеночной недостаточности.

Сохраняющееся клеточно-опосредованное иммунное повреждение паренхимы печени приводит к избыточному содержанию в ней CD68-позитивных купферовских клеток, более высокого у больных ЦПС, что в свою очередь, приводит к более выраженной активации звездчатых клеток у них. Более выраженная длительная активация звездчатых клеток печени у больных ЦПС лежит в основе быстро прогрессирующего фиброза в печени и значительное сокращение продолжительности жизни этих больных по сравнению с больными ЦПВ.

В основе гепатоканцерогенеза, приводящего к формированию ГЦК, являющейся закономерным завершающим этапом естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции (Рисунок 25), лежат глубокие нарушения местного клеточного иммунологического надзора и нарушение контроля клеточного роста.

На этапе ГЦК

Ткань опухоли

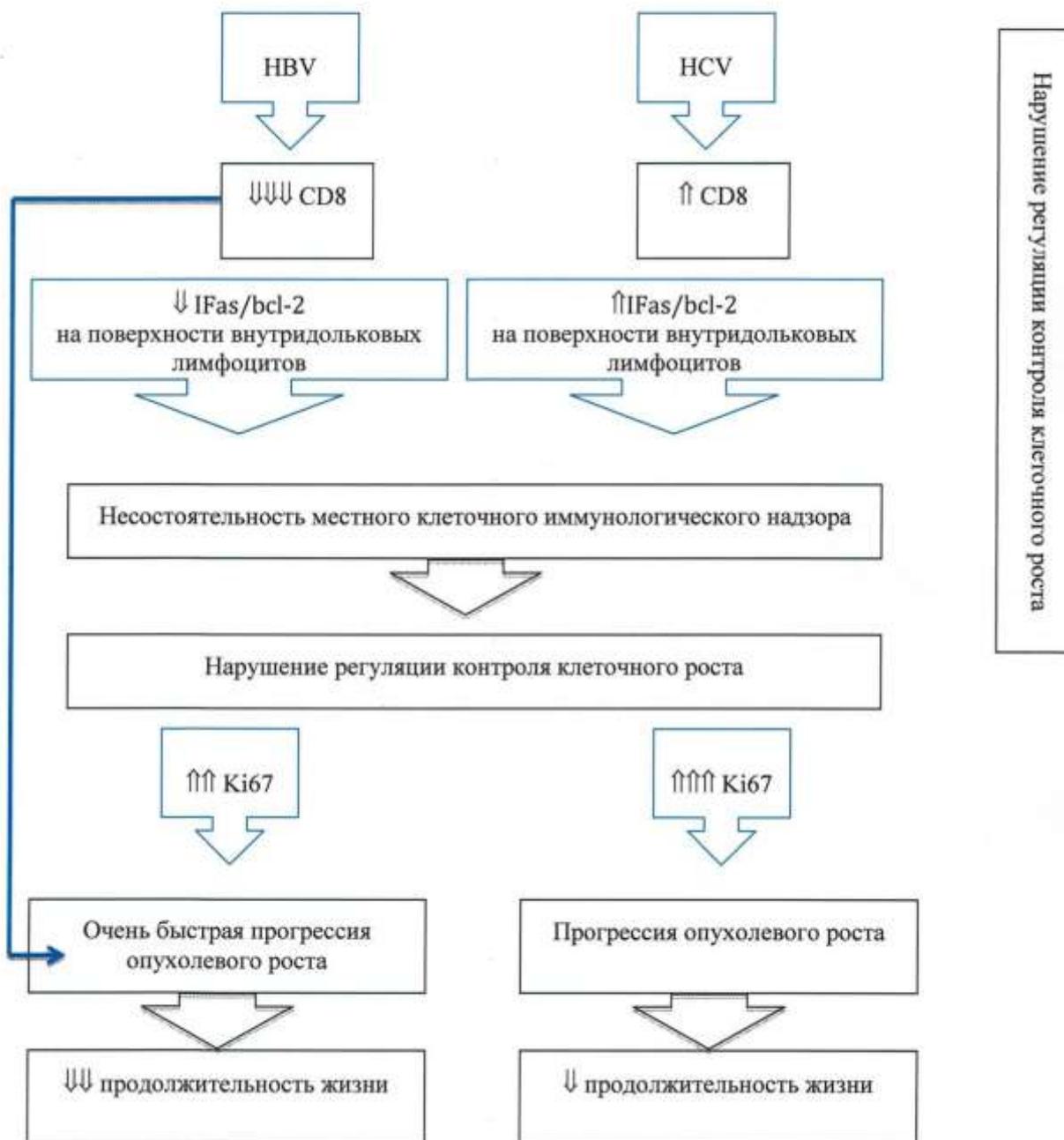


Рисунок 25 – Патогенетическая схема патологической пролиферации опухоли на этапе ГЦК хронической HBV- и HCV-инфекции

Патологическая пролиферация опухолевых клеток, достоверно более выраженная у больных ГЦКС, лежит в основе прогрессии опухолевого роста. Крайне низкое содержание CD8-позитивных лимфоцитов в строме опухоли,

несмотря на низкий уровень их потенциальной готовности к апоптозу и умеренный показатель пролиферативной активности опухолевых клеток, у больных ГЦКВ приводят к более быстрой прогрессии опухолевого роста, что обуславливает значительно меньшую продолжительность жизни у больных ГЦКВ по сравнению с больными ГЦКС.

Разные патогенетические механизмы, лежащие в основе прогрессии опухолевого роста на завершающем этапе хронической HBV- и HCV-инфекции, не имеют характерных клинических и морфологических проявлений, то есть схожие клинические и морфологические проявления могут иметь разную патогенетическую основу.

Таким образом, наши исследования подтвердили патогенетическое единство разных последовательных этапов хронической HBV- и HCV-инфекции (ХГ, ЦП и ГЦК), в основе которых лежат постоянное клеточно-опосредованное иммунное повреждение паренхимы, ее постоянная регенерация и патологический фиброгенез. На каждом из этапов хронической HBV- и HCV-инфекции, имеется преобладание одного или нескольких типовых патологических процессов (повреждение, регенерация, фиброгенез), неразрывно связанных между собой посредством сложных механизмов взаимной регуляции, и при неблагоприятном течении приводящих к прогрессии заболевания.

На этапе ХГ наиболее выражены процессы повреждения и регенераторной пролиферации. Повреждение на этапе ХГ, приводящее к разным морфологическим изменениям в печени и разному клиническому течению в зависимости от этиологии, обусловлено персистенцией разных гепатотропных вирусов в ткани печени, а также характером местного клеточного иммунного ответа и функциональным состоянием внутридольковых лимфоцитов. Разные механизмы повреждения на этапе ХГ хронической HBV- и HCV-инфекции приводят к реализации типовых компенсаторно-приспособительных механизмов и возрастанию

регенераторной пролиферации гепатоцитов, что обуславливает отсутствие печеночной недостаточности у больных на этом этапе. Различный характер местного клеточного иммунного ответа, в зависимости от свойств разных гепатотропных вирусов, лежит в основе разной выраженности активации процессов патологического фиброгенеза, определяющего разную скорость прогрессии фиброза печени у больных ХГВ и ХГС.

На этапе ЦП при сохраняющемся повреждении преобладают процессы несбалансированного фиброгенеза. В основе схожих морфологических изменений лежат принципиально разные механизмы клеточно-опосредованного иммунного повреждения. Разный, в зависимости от этиологии, характер местного иммунного клеточного ответа в совокупности с различным функциональным состоянием внутридольковых лимфоцитов определяют характер клинического течения и схожую клиническую картину декомпенсированного ЦП. Сохраняющееся повреждение на этапе ЦП не сопровождается адекватной регенераторной пролиферацией гепатоцитов, что закономерно влечет за собой прогрессирование печеночной недостаточности у больных декомпенсированным ЦП. Разная скорость прогрессирования фиброза (и углубление степени выраженности фиброза), в зависимости от этиологии, опосредованно обусловлена различным характером местного клеточного иммунного ответа у больных ЦП.

Нарушение местного клеточного иммунологического надзора, влекущее за собой несостоятельность механизмов регуляции контроля клеточного роста, способствующее патологической пролиферации и прогрессированию ГЦК, имеют в основе разные механизмы, обусловленные HBV и HCV. Различный характер местного клеточного иммунного ответа в ткани опухоли в совокупности с разным функциональным состоянием тканевых лимфоцитов при одинаковой морфологической характеристике опухоли приводит к разной скорости прогрессии опухолевого роста и, закономерно, к различной продолжительности жизни больных ГЦКВ и ГЦКС.

Таким образом, естественное течение хронической HBV- и HCV-инфекции характеризуется сочетанием ряда типовых патологических процессов, имеющих существенные отличия на каждом из этапов. Клеточно-опосредованное иммунное повреждение паренхимы печени сопровождается компенсаторной регенераторной пролиферацией гепатоцитов, эффективной на этапе ХГ и неэффективной на этапе декомпенсированного цирроза. Повреждение паренхимы печени влечет за собой реактивные изменения непаренхиматозных элементов печеночных долек, и, посредством экспрессии ими биологически активных веществ, к активации патологического фиброгенеза. В основе во многом схожих, особенно на этапах ЦП и ГЦК, морфологических и клинических проявлений на разных этапах хронической HBV- и HCV-инфекции лежат различные механизмы патогенеза, определяемые этиологическим фактором.

ВЫВОДЫ:

1. Для HCV-инфекции характерны скрытое течение и поздняя манифестация в виде хронического гепатита (80,9%), быстрая прогрессия фиброза печени с трансформацией в декомпенсированный цирроз печени и низкой продолжительностью жизни больных циррозом печени. Для HBV-инфекции характерна ранняя манифестация в виде острого гепатита (59,6%), длительные сроки формирования цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы, но быстрая прогрессия опухоли со снижением продолжительности жизни больных гепатоцеллюлярной карциномой.

2. Клинические и лабораторные различия хронической HBV- и HCV-инфекции наблюдаются на этапе хронического гепатита с более частой гиперферментемией (по активности сывороточной АлАт) при HCV-инфекции. Для хронической HBV-инфекции характерен более выраженный уровень цитолитического синдрома на всех этапах естественного течения при сопоставимой гистологической активности гепатита. Для цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы характерно длительное малосимптомное течение, во многом сходные клинические и лабораторные проявления при декомпенсации цирроза печени и общий танатогенез, чаще обусловленный проявлениями портальной гипертензии. Все этапы естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции характеризуются несоответствием выраженности цитолитического синдрома (по активности сывороточной АлАт) морфологическим изменениям в печени.

3. Наиболее высокий уровень CD8⁺ лимфоцитов в паренхиме печени наблюдается при хроническом гепатите, значительно более низкий - на этапах цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы, и преобладанием на всех этапах хронической HCV-инфекции. Увеличение содержания внутридольковых лимфоцитов у больных хроническим гепатитом приводит к

повышению гистологической активности гепатита ($r=0,7$ и $r=0,63$ при HBV- и HCV-инфекции соответственно) с нарастанием выраженности цитолитического синдрома ($r=0,7$ при HBV-инфекции), сопровождается активацией тканевых макрофагов ($r=0,6$ и $r=0,72$ при HBV- и HCV-инфекции соответственно), что обусловлено репликацией HBV (при выявлении у больных HBsAg и HBcorAbIgM $r=0,5$ и $r=0,9$) и не зависит от экспрессии NS3HCV в гепатоцитах ($r=-0,36$). Содержание CD4+ лимфоцитов на всех этапах хронической HCV-инфекции в паренхиме печени низкое или отсутствует.

4. Потенциальная готовность внутридольковых лимфоцитов печени к апоптозу характеризуется отношением выраженности на их поверхности экспрессии проапоптозных FasL и Fas к противоапоптозному фактору bcl-2 (FasL/Fas/bcl-2). Низкая готовность внутридольковых лимфоцитов к апоптозу приводит к снижению уровня их гибели и нарастанию клеточно-опосредованного иммунного повреждения гепатоцитов; высокая – к гибели внутридольковых лимфоцитов и стиханию иммунного повреждения печени.

5. Для хронического гепатита С характерна высокая потенциальная готовность внутридольковых лимфоцитов к апоптозу, что, несмотря на более высокое содержание внутридольковых лимфоцитов, проявляется слабой выраженностью цитолитического синдрома по сравнению с хроническим гепатитом В при сопоставимой гистологической активности. Декомпенсированный цирроз печени характеризуется высокой потенциальной готовностью внутридольковых лимфоцитов к апоптозу, наиболее высокой при HCV-инфекции, что при умеренной и высокой гистологической активности, не приводит к развитию выраженного цитолитического синдрома. Различный уровень потенциальной готовности внутридольковых лимфоцитов к апоптозу обуславливает несоответствие клинической картины заболевания (выраженность цитолитического синдрома) морфологическим изменениям в печени (выраженность

гистологической активности гепатита) на разных этапах хронической HBV- и HCV-инфекции.

6. Регенераторная пролиферация гепатоцитов у больных хроническим гепатитом, с преобладанием при HBV-инфекции, возрастает по мере нарастания клинических (по активности сывороточной АлАт, $r=0,52$ и $r=0,40$ соответственно) и морфологических (ИГА, $r=0,65$ и $r=0,45$ соответственно) критериев повреждения, обеспечивая сохранение функции печени. Декомпенсированный цирроз печени в исходе хронической HBV- и HCV-инфекции, при сохраняющихся морфологических признаках повреждения паренхимы печени, характеризуется одинаково низкой регенераторной пролиферацией гепатоцитов, что лежит в основе прогрессирования печеночной недостаточности. Гепатоцеллюлярная карцинома обладает высокой пролиферативной активностью опухолевых клеток, более выраженной при HCV-инфекции.

7. Активация звездчатых клеток печени (α -SMA+) и прогрессирование патологического фиброгенеза в печени у больных хроническим гепатитом С возрастает при увеличении гистологической активности, с максимальной выраженностью при умеренной и высокой гистологической активности и избыточной макрофагальной реакцией стромы вне зависимости от уровня цитолитического синдрома. Уровень экспрессии α -SMA в звездчатых клетках печени у больных хронической HBV-инфекцией достоверно ниже, чем у больных хронической HCV-инфекцией как на этапе хронического гепатита, так и на этапе цирроза печени, зависит от выраженности цитолитического синдрома и не зависит от гистологической активности гепатита, что обуславливает значительно более длительные сроки формирования цирроза печени и большую продолжительность жизни больных.

8. Естественное течение хронической HBV- и HCV-инфекции на всех этапах характеризуется постоянным повреждением гепатоцитов, их регенераторной пролиферацией (эффективной на этапе хронического

гепатита и неэффективной на этапах цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы), а также пролиферацией тканевых макрофагов, опосредованно, через активацию звездчатых клеток печени, приводящих к прогрессированию фиброза. Механизмы повреждения, регенерации гепатоцитов и фиброгенеза на всех этапах хронической HBV-инфекции существенно отличаются от HCV-инфекции, определяют особенности клинического течения, частоту и скорость развития неблагоприятных исходов. Реализация механизмов повреждения и регенерации гепатоцитов, а также фиброгенеза, приводит к закономерной трансформации хронического гепатита в цирроз печени и сохраняется в ткани печени при формировании гепатоцеллюлярной карциномы.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Отсутствие гиперферментемии (по активности сывороточной АлАт) у больных хронической HBV- и HCV-инфекцией, не может являться надежным изолированным критерием оценки активности патологического процесса в печени.
2. Частое несоответствие выраженности цитолитического синдрома структурным изменениям в печени, в частности, гистологической активности гепатита, в комплексной оценке активности патологического процесса и стадии заболевания диктует необходимость расширения показаний для проведения прижизненного морфологического исследования печени.
3. Для объективного определения функциональной состоятельности внутридольковых лимфоцитов (с выявлением экспрессии Fas, FasL и bcl-2 на их поверхности и оценкой степени их потенциальной готовности к апоптозу) целесообразно использование иммуногистохимического метода

при прижизненном морфологическом исследовании печени на разных этапах хронической HBV- и HCV-инфекции.

4. Для уточнения регенераторного потенциала печени и прогнозирования развития ее недостаточности на разных этапах хронической HBV- и HCV-инфекции, необходимо определение иммуногистохимическим методом экспрессии Ki67 в гепатоцитах с расчетом индекса пролиферации и сопоставлением с выраженностью повреждения паренхимы. Низкий показатель пролиферативной активности гепатоцитов у больных ХГ в условиях высокого уровня повреждения паренхимы печени позволяет прогнозировать развитие печеночной недостаточности.
5. Особенности фиброгенеза в печени при хронической HCV-инфекции, а именно зависимость степени активации звездчатых клеток от выраженности повреждения паренхимы печени, необходимо учитывать при выделении группы высокого риска прогрессирования фиброза печени.
6. Фактором высокого риска начала патологического фиброгенеза и прогрессирования фиброза печени следует рассматривать наличие умеренной и высокой гистологической активности хронического гепатита, вне зависимости от выраженности цитолитического синдрома, особенно у больных хронической HCV-инфекцией.
7. Выделение группы высокого риска позволит корректировать показания для лечения, направленного на снижение повреждения паренхимы печени, что позволит патогенетически обоснованно нивелировать риск прогрессирования фиброза печени при ХГС и ЦПС, тем самым увеличивая продолжительность и улучшая качество жизни пациентов.
8. При наличии гиперкреатинемии у больных ЦП и ГЦК, вне зависимости от этиологии, необходимо исключение фоновой соматической патологии с поражением почек, в том числе атеро- и артериолосклеротического нефросклероза в исходе гипертонической болезни в сочетании с

атерокслерозом, а также наличия гнойной инфекции, часто осложняющей течение декомпенсированного ЦП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе выполнения диссертационного исследования изучены основные звенья патогенеза на каждом из этапов естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции – повреждение паренхимы печени, ее регенерация и фиброгенез, и обусловленные ими важнейшие клинические проявления. Охарактеризованы морфологические изменения в печени, во многом определяемые особенностями местного клеточного иммунного ответа у больных ХГ, ЦП и ГЦК в зависимости от этиологии и этапа патологического процесса. Показано, что в основе различных клинико-биохимических и морфологических проявлений на этапе ХГ, равно как и сходных клинико-биохимических и морфологических проявлений на этапе ЦП и ГЦК лежат принципиально разные варианты местного клеточного иммунного ответа. Выявлены особенности функциональной состоятельности внутрипеченочных лимфоцитов, обусловленные разным сочетанием экспрессии на их поверхности про- и противоапоптозного факторов в зависимости от этиологии и этапа патологического процесса и лежащие в основе частого несоответствия клинико-биохимических проявлений ХГ, ЦП и ГЦК, ассоциированных с HBV и HCV выраженности морфологической активности патологического процесса. Охарактеризованы особенности регенераторной пролиферации паренхимы печени в зависимости от выраженности повреждения на разных этапах хронической HBV- и HCV-инфекции, лежащие в основе сохранения функции печени на этапе ХГ, развития печеночной недостаточности на этапе декомпенсированного цирроза, и прогрессии опухолевого роста на этапе ГЦК в ходе естественного течения хронической HBV- и HCV-инфекции. Полученные данные об особенностях фиброгенеза у больных хронической HCV-инфекцией патогенетически

обосновывают ее более частое неблагоприятное течение, а также более частое и быстрое развитие неблагоприятных исходов.

Перспективы дальнейшего изучения патогенеза хронической HBV- и HCV-инфекции связаны с уточнением механизмов цитокиновой регуляции всех основных патогенетических звеньев (повреждение, регенерация и фиброгенез), осуществляемой клетками-участниками этих патологических процессов. Изучение механизмов цитокиновой регуляции повреждения, регенерации и фиброгенеза в печени, может явиться теоретическим обоснованием для разработки новых эффективных методов лечения.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ДИССЕРТАЦИИ

АлАТ – аланинаминотрансфераза

анти-НАV IgM – антитела к вирусу гепатита А класса IgM

анти-НВс – общие антитела к ядерному антигену вируса гепатита В

анти-НВс IgM – антитела к ядерному антигену вируса гепатита В класса IgM

анти-НВе (НВеAb) – антитела к антигену инфекционности вируса гепатита В

анти-НВs (НВsAb) – антитела к поверхностному антигену вируса гепатита В

анти-НСV (НСVAb) – общие антитела к вирусу гепатита С

АсАТ – аспартатаминотрансфераза

ВГ – вирусный гепатит

ГВ – гепатит В

ГС – гепатит С

ГИС – гистологический индекс стадии заболевания

ГЦК – гепатоцеллюлярная карцинома

ГЦКВ – гепатоцеллюлярная карцинома, ассоциированная с HBV

ГЦКС – гепатоцеллюлярная карцинома, ассоциированная с HCV

ДЖВП – дискинезия желчевыводящих путей

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИГА – индекс гистологической активности

ИЛ (IL) – интерлейкин

ИФА – иммуноферментный анализ

ИФН (IFN) – интерферон

ОГ – острый гепатит

ОГВ – острый вирусный гепатит В

ОГС – острый вирусный гепатит С

ПЦР (PCR) – полимеразная цепная реакция

РНК – рибонуклеиновая кислота

ФНО (TNF) – фактор некроза опухолей

ХГ – хронический гепатит

ХВГ – хронический вирусный гепатит

ХГВ – хронический вирусный гепатит В

ХГС – хронический вирусный гепатит С

ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы

ЦП – цирроз печени

ЦПВ – цирроз печени, ассоциированный с HBV

ЦПС - цирроз печени, ассоциированный с HCV

ЩФ – щелочная фосфатаза

α -SMA – α -изоформа гладкомышечного активна

Bcl-2 – противоапоптозный фактор

CD3+ – Т-лимфоциты

CD4+ – Т-хелперы

CD8+ (CTL, ЦТЛ) – цитотоксические Т-лимфоциты

CD20+ – В-лимфоциты

CD68+ – макрофаги

IndF – индекс экспрессии проапоптозных факторов на поверхности клеток

Ifbcl (If/bcl) – индекс потенциальной готовности лимфоцитов к апоптозу

F0, F1, F3, F4 – стадии фиброза печени

Fas (CD95) – Fas-рецептор, проапоптозный фактор

FasL - Fas- лиганд, проапоптозный фактор

HBcAg (HBcorAg) – сердцевинный антиген вируса гепатита В

HBеAg – антиген инфекционности вируса гепатита В

HBsAg – поверхностный антиген вируса гепатита В

HBV (ВГВ) – вирус гепатита В

HCV (ВГС) – вирус гепатита С

Ki67- маркер пролиферации клеток

NK – натуральные киллеры

NS3HCV – ns3 неструктурный белок вируса гепатита С

TGF β – трансформирующий фактор бетта

ЛИТЕРАТУРА

1. Абдурахманов, Д.Т. Возможен ли регресс фиброза печени при хроническом вирусном гепатите? /Д.Т. Абдурахманов, М.В. Серов / Клиническая фармакология и терапия. – 2011. – Т.20, №1. – С.21-25.
2. Абдурахманов, Д.Т. Противовирусная терапия и регресс фиброза печени при хроническом гепатите В / Д.Т. Абдурахманов // Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2010. - №1. – С.14-20.
3. Айдагулова, С.В. Полиморфизм звездчатых клеток печени и их роль в фиброгенезе / С.В. Айдагулова, В.И. Капустина // Бюллетень СО РАМН. – 2008. – №6. – С.93-97.
4. Активность эластазо-, коллагеназоподобных протеиназ и их ингибиторов в плазме крови при метаболизме коллагена в условиях хронического течения заболеваний печени вирусной и токсической этиологии / Е.В. Белобородова [и др.] // Бюллетень СО РАМН. – 2008. – Том 30, №2. – С.94-100.
5. Алексеева, М.Н. Сравнительная характеристика гепатоцеллюлярной карциномы у больных с наличием хронических вирусных гепатитов и циррозов печени алкогольной этиологии / М.Н. Алексеева, Т.Т. Бугаева, А.Г. Рахманова, П.Н. Иванов// ВИЧ-инфекция и иммуносупрессия – 2010. - №4, Том2, - С.49-54.
6. Аничков, Н.М. Биология опухолевого роста (молекулярно-медицинские аспекты) /Н.М. Аничков, И.М. Кветной, С.С. Коновалов – СПб.: “Издательство “Прайм-Еврознак”, 2004. – 224 с.
7. Антонова, Т.В. Хронический гепатит С у больных с метаболическим синдромом / Т.В. Антонова, М.А. Романова, Е.Г. Сергеева // Журнал инфектологии. – 2011. – Т.3, №3. – С.91-96.
8. Апоптоз клеток лимфоцитарного инфильтрата и клеток печени при хронических вирусных гепатитах / Е.В. Дмитриева [и др.] // Успехи клинической иммунологии и аллергологии. – Т. 3. – М., 2002. – С. 14-31.

9. Апоптоз лимфоцитов и гранулоцитов периферической крови при хронической HBV и HCV инфекции / А.О. Буеверов [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2000. – № 6. – С. 33-36.
10. Апросина З.Г. Хронические вирусные заболевания печени: пато- и морфогенез, клиническая характеристика / З.Г. Апросина, В.В. Серов // Терапевт. арх. – 1995. – № 5. – С. 77-80.
11. Апросина, З.Г. Патогенез хронического гепатита В. / З.Г. Апросина, В.В. Серов // Архив патологии. — 2001. — No 2. — С. 58-62.
12. Аруин, Л.И. Апоптоз и патология печени / Л.И. Аруин // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1998. – № 2. – С. 6-11.
13. Аутоиммунная реактивность у детей с хроническими вирусными гепатитами В и С / Н.И. Толкачева [и др.] // Медицинский альманах. – 2010. – №2. – С.103-105.
14. Афанасьева, К.А. О клинических «масках» первичного рака печени / К.А. Афанасьева // Сов. медицина. – 1963. – № 2. – С. 66-72.
15. Барамзина, С.В. Хроническая HCV-инфекция: эпидемиологическая и эпидемиологическая характеристика заболевания в разных возрастных группах за 14-летний период наблюдения /С.В. Барамзина // Медицинский альманах. – 2014. - №1. – С.34-37.
16. Барановский, А.Ю. Стандарты диагностики и лечения заболеваний печени, желчевыводящих путей и поджелудочной железы / А.Ю. Барановский, И.Я. Шапиро // Российский семейный врач. – 1999. – № 4. – С. 55-64.
17. Белозеров, Е.С. Вирусный гепатит / Е.С. Белозеров, Е.А. Иоанниди. – М.: Джангар, 2004. – 157 с.
18. Белушкина, Н.Н. Молекулярные основы патологии апоптоза / Н.Н. Белушкина, С.Е. Северин // Арх. патологии. – 2001. – № 1. – С. 51-60.

19. Бессонова, Е.Н. Возможности противовирусной терапии у больных циррозом печени в исходе HCV-инфекции / Е.Н. Бессонова // Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2011. – № 4. – С. 43-51.

20. Бондаренко, А.Л. Неблагоприятные прогностические иммунологические и иммуногенетические факторы формирования цирроза печени у больных хроническим гепатитом В / А.Л. Бондаренко, С.В. Барамзина // Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.— 2004.— № 4.— С. 54—59.

21. Бондаренко, А.Л. HCV-цирроз печени: клиника, диагностика, прогностические критерии его формирования на этапе хронического гепатита С / А.Л. Бондаренко, С.В. Барамзина // Вятский медицинский вестник. – 2010. – №3. – С. 3-8.

22. Борисов, А.Г. Особенности состояния клеточного и гуморального иммунитета при остром и хроническом вирусном гепатите / А.Г. Борисов, А.А. Савченко // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – №3. – С. 53-57.

23. Блюм, Х.Е. Гепациеллюлярная карцинома: современное состояние проблемы / Х.Е. Блюм // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2005. – № 2. – С. 33-41.

24. Буеверов, А.О. Апоптоз и вирусные гепатиты / А.О. Буеверов // Вирусные гепатиты. – 2001. – № 1. – С. 12-14.

25. Буеверов, А.О. Иммунологические механизмы повреждения печени / А.О. Буеверов // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1998. – № 5. – С. 18-21.

26. Буеверов, А. О. Сравнительная характеристика апоптоза периферических лейкоцитов при вирусных и аутоиммунных заболеваниях печени / А. О. Буеверов, О. Ю. Киселева, В. Т. Ивашкин [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 2009. — № 4. — С. 41– 47.

27. Буеверов, А. О. Клиническое значение апоптоза при хронических вирусных гепатитах / А. О. Буеверов, М. В. Маевская // Медицинский вестник Северного Кавказа. — 2009. — Т. 14, No 4. — с. 4–9.

28. Быстрова, Т.Н. Генотипическое разнообразие вируса гепатита С, циркулирующего среди населения Нижегородской области / Т.Н. Быстрова [и др.] // Медицинский альманах. — 2011. — No 4. — С. 32–34.

29. Варианты поражения сердца при хроническом гепатите С / Т.Н. Лопаткина [и др.] / Клиническая фармакология и терапия. — 2014. — Т.23, №4. — С.90-94.

30. Вирусная нагрузка при хроническом гепатите В: корреляции с лабораторно-морфологическими показателями / Е.В. Эсауленко [и др.] // Журнал инфектологии. — 2012. — Т.4, №2. — С.67-72.

31. Вирусные гепатиты / К.В. Жданов [и др.]. — СПб.: Фолиант, 2011. — 304 с.

32. Вирусные гепатиты / Ю.В. Лобзин [и др.]. — СПб. 2006. - 183 с.

33. Возможность обратимости цирроза печени (клинические и патогенетические предпосылки) / Ч.С. Павлов [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. — 2006. — Т. 16, No 1. — С. 20–29.

34. Выявление маркеров репликации вируса гепатита С в мононуклеарных клетках периферической крови больных хроническим гепатитом С / Т.В. Вишневская [и др.] // Медицинская иммунология. — 2008. — Т.10, №4-5. — С.397-404.

35. Гарбузенко, Д.В. Механизмы регуляции регенерации печени / Д.В. Гарбузенко, Г.К. Попов // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 2001. — №1. — С. 21-25.

36. Генетические факторы подверженности к хронизации вирусного гепатита и фиброзу в печени / И. А. Гончарова [и др.] // Молекулярная биология. — 2008. — Т. 42, No 2. — С. 238- 341.

37. Гепатит В / Информационный бюллетень ВОЗ. Женева: ВОЗ, 2013. №204.
38. Гепатит С / Информационный бюллетень ВОЗ. Женева: ВОЗ, 2013. №164.
39. Гепатоинтестинальный синдром при HBV- и HCV-циррозе печени / Д.Л. Сулима [и др.]. // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2005. - №2. – С.19-24.
40. Гепатоцеллюлярный рак на фоне цирроза печени / В.А. Журавлев. [и др.]. // Клинич. медицина. – 1996. – № 2. – С. 2-5.
41. Гибсон, Д.Б. Гистологическая классификация опухолей печени, желчных путей и поджелудочной железы: перевод с англ. / Д.Б. Гибсон, Л.Г. Собин. – М.: Медицина, 1983. – 47 с. – (Международная гистологическая классификация опухолей / ВОЗ; № 20).
42. Годило-Годлевский, В.А. Хронические гепатиты как медико-социальная проблема / Медицинский вестник МВД. – 2013. – №2. – С.51-54.
43. Голованова, Е.С. Классификация хронических гепатитов и циррозов печени с комментарием / Е.С. Голованова // Гепатология. – 2003. – № 6. – С. 33-40.
44. Горбаков, В.В. Хронические вирусные гепатиты / В.В. Горбаков // Новый мед. журн. – 1996. – № 5-6. – С. 24-27.
45. Горелова, И.С. Сывороточные показатели семейства трансформирующего фактора роста-В у пациентов с фиброзом печени при HCV-инфекции / И.С. Горелова, Е.В. Маркелова, Л.Ф. Скляр // Фундаментальные исследования. – 2014. - №7. – С.671-674.
46. Готье, С.В. Гепатоцеллюлярная карцинома / С.В. Готье // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1997. – № 5. – 19-21.

47. Девиен, Е.А. Хронический гепатит С в Ульяновской области как медико-социальная проблема /Е.А. Девиен, Л.М. Киселева, Р.Ф. Бурганова // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2011. - №2. – С. 86-90.

48. Дизрегуляция клеточного звена иммунитета при хроническом вирусном гепатите / И.О. Наследникова [и др.] // Бюллетень СО РАМН. – 2005. – Т.118, №4. – С.59-63.

49. Динамика хронического активного гепатита различной степени тяжести / В.В. Серов [и др.] // Арх. патологии. – 1981. – № 8. – С. 18-26.

50. Дисбиоз кишечника при циррозе печени / К.В. Жданов [и др.] // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2011. - №6. – С.38-43.

51. Дмитриева, Е.В. Роль апоптоза в патогенезе хронических вирусных гепатитов В и С / Е.В. Дмитриева, Е.Ю. Москалева, Е.С. Северин // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2003. – № 5. – С. 7-13.

52. Звягинцева, Т.Д. Современные представления о сосудистом эндотелии в норме и при патологии желудочно-кишечного тракта / Т.Д. Звягинцева, С.В. Гріднева // Эксп. клин. гастроэнтерол. – 2005. – № 4. – С. 6–12.

53. Ивашкин, В.Т. Болезни печени и желчевыводящих путей: Руководство для врачей. 2-е изд. М.: ООО «Издат. дом «М-Вести». – 2005. – 536 с.

54. Ивашкин, В.Т. Прогноз развития гастроэнтерологии и гепатологии на ближайшие 10 лет / В.Т. Ивашкин // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2001. – № 1. – С. 7-13.

55. Ивашкин, В.Т. Иммунная система и повреждения печени при хронических гепатитах В и С / В.Т. Ивашкин // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2009. – № 6. – С. 4-10.

56. Ивашкин, В.Т. К новой классификации хронических гепатитов / В.Т. Ивашкин, А.И. Хазанов // Рус. мед. журн. – 1995. – № 1. – С. 7-10.

57. Ивашкин, В.Т. Клеточная и молекулярная биология воспаления печени / В.Т. Ивашкин // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1998. – №5. – С. 13-17.

58. Ивашкин, В.Т. Механизмы иммунной толерантности и патологии печени / В.Т. Ивашкин // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2009. – Т. 19, No 2. – С. 8–13.

59. Ивашкин, В.Т. Основные понятия и положения фундаментальной иммунологии / В.Т. Ивашкин // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2008. – Т. 18, No 4. – С. 4-8.

60. Ивашкин, В.Т. Оценка функционального состояния печени // Болезни печени и желчевыводящих путей / Под ред. В.Т. Ивашкина. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: Изд. дом «М-Вести», 2005. – С. 66–84.

61. Игнатова, Т.М. Патогенез хронического гепатита С. / Т.М. Игнатова, В.В. Серов // Архив патологии. — 2001. – No 3. — С. 54-57.

62. Игнатова, Т.М. Естественное течение хронической HCV-инфекции / Т.М. Игнатова // Рос. журн. гастроэнт., гепатол., колопроктол. — 2002. — No2. — С.20-29.

63. Игнатова, Т.М. Роль генетических факторов в развитии и прогрессировании хронических заболеваний печени / Т.М. Игнатова, С.М. Абдуллаев // Клиническая гепатология. – 2007. – №3. – С. 3-10.

64. Изменения цитогенетического статуса лимфоцитов периферической крови при хронических HBV и HCV инфекциях / Н.В. Рязанцева [и др.]// Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2004. – Том 14, №1, - С.37-40.

65. Ильмухина, Л.В. Функциональное состояние вегетативной нервной системы при хроническом вирусном гепатите В / Л.В. Ильмухина, Л.М. Киселева // Сибирский медицинский журнал. – 2008. - №7. – С.32-35.

66. Ильянкова, А.А. Хронический гепатит В: современные алгоритмы лечения /А.А. Ильянкова, И.О. Иваников // Клинический вестник. – 2011. - №3. – С.85-87.

67. Иммунные предикторы фиброгенеза и их использование для неинвазивной диагностики фиброза печени у больных хроническими вирусными гепатитами / М.В. Шипунов [и др.] // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – Т.85, №3. – С.231-236.

68. Иммунологические нарушения и уровень антител к различным тканям организма при хроническом вирусном гепатите С / У.П. Набиева [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – 2008. - №7. – 69-70.

69. Иммуноопосредованная регуляция апоптоза гепатоцитов при различных поражениях печени и возможности ее фитокоррекции / И. П. Убеева [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – 2009 — Т. 90, N.7 — С.218-221.

70. Интерлейкины при хроническом вирусном гепатите / А.С. Логинов [и др.] // Терапевт. арх. – 2001. – № 2. – С. 17-21.

71. Исаков, В.А. Как определять выраженность фиброза печени и зачем? / В.А. Исаков // Клин. гастроэнтерол. гепатол. – 2008. – Т. 1, No 2. – С. 72–75.

72. Карр, Я. Макрофаги. Обзор ультраструктуры и функции /Я. Карр, Под редакцией Ю.И. Афанасьева. М.: Медицина, 1979. – 189.

73. Классификация хронического гепатита: диагностика, определение степени тяжести и стадии процесса / V. Desmet [et al.]. // Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 1995. - №2. – С. 38-45.

74. Клинико-иммунологические, вирусологические и морфологические взаимосвязи при хроническом гепатите С / К.В. Жданов [и др.] // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2007. – № 2. – С.78-82.

75. Клинико-иммунологическая характеристика больных хроническими вирусными гепатитами В и С / В.Н. Цыган [и др.] // Мед. иммунология. - 2000. – № 2. – С. 202.

76. Клинико-молекулярные взаимосвязи хронического гепатита и гепатоцеллюлярного рака, ассоциированных с вирусом гепатита В / И.Я. Шапиро [и др.] // Архив патологии. – 2005. – Т. 67, № 2. – С. 6-10.

77. Комарова, Д.В. Морфологическая диагностика инфекционных заболеваний печени / Д.В. Комарова, В.А. Цинзерлинг. – СПб.: СОТИС, 1999. – 245 с. – (Практическое руководство).

78. Крохина Н.Б. Морфологическое исследование печени в оценке факторов прогноза при хроническом вирусном гепатите С / Н.Б. Крохина, Т.М. Мельникова // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2008. – №3. – С. 42-44.

79. Кучерявый, Ю.А. Хронический гепатит, цирроз печени и гепатоцеллюлярная карцинома – звенья одной цепи / Ю.А. Кучерявый, Н.Ю. Стукова, М.Л. Ахтаева // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2012. – №5. – С.3-11.

80. Лейкопения и нейтропения у больных хроническим гепатитом С на фоне различных вариантов комбинированной противовирусной терапии / К.В. Жданов [и др.] // Журнал инфектологии. – 2011. – Том 3, №2. – С.74-80.

81. Ликий, И.В. Степень выраженности цитолитического синдрома у больных хроническим гепатитом С и структура болезненности данного заболевания / И.В. Ликий, Н.А. Семеняко, Т.В. Сологуб // Эпидемиология, микробиология, инфекционные и паразитарные болезни. – 2008. – №4. – С.178-182.

82. Лобзин, Ю.В. Вирусные поражения печени: от болезни Боткина до современной инфекционной гепатологии / Ю.В. Лобзин, К.В. Жданов // Медицинский академический журнал – 2012. - №2, Том 12, - С.7-18.

83. Логинов, А.С. Классификация и номенклатура хронических заболеваний печени / А.С.Логинов // Рос. гастроэнтерол. журнал. – 1995. – № 2. – С. 3-8.

84. Логинов, А.С. Хронические гепатиты и циррозы печени / А.С. Логинов, Ю.Е. Блок. – М.: Медицина, 1987. – 272 с.

85. Лялина, Л. В. Эпидемиологические закономерности злокачественных новообразований, ассоциированных с хроническими инфекциями, и развитие системы эпидемиологического надзора: автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Л. В. Лялина ; С. -Петерб. гос. мед. акад. – СПб., 2005. – 44 с.

86. Малеев, В.В. Хронический гепатит С: возможности и перспективы противовирусной терапии /В.В. Малеев, Т.В. Сологуб, А.Н. Наровлянский //Вестник СПбГМА им И.И. Мечникова. – 2008. - №3. – С.37-41.

87. Маркеры активации на Т-хелперах и цитотоксических Т-лимфоцитах на различных стадиях хронического вирусного гепатита С / В.Ю. Никитин [и др.] // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2007. – № 1. – С.65-71.

88. Майер, К.П. Естественное течение и диагностика вирусного гепатита С / К.П. Майер // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2000. – № 4. – С. 21-23.

89. Маянский, Д.Н. Иммунологические свойства синусоидных клеток печени / Д.Н. Маянский // Успехи совр. биологии. – 1992. – Вып. 1. – С. 100-114.

90. Маянский, Д.Н. Клеточно-молекулярные механизмы формирования цирроза печени / Д.Н. Маянский, А.А. Зубахин // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1998. – № 6. – С. 6-13.

91. Механизмы иммунного ускользания при вирусных гепатитах / В.Т. Ивашкин [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2000. – № 5. – С. 7-11.

92. Мехтиев, С. Н. Клиническое и прогностическое значение портальной гипертензии у больных хроническим гепатитом и циррозом печени : автореф. дис. ... докт. мед. наук : 14. 00. 47 / Мехтиев Сабир Насрединович. — СПб., 2004. — 46 с.

93. Мицура, В.М. HCV-ассоциированный цирроз печени: клинические проявления и причины неблагоприятных исходов / В.М. Мицура // Клиническая инфектология и паразитология. – 2013. – №3. – С. 75-82.

94. Морфогенез хронического гепатита С и цирроза печени инфекционно-вирусного генеза / Г.И. Непомнящих, [и др.]// Бюллетень СО РАМН – 2008 - №6 (134), С.66-77.

95. Морфологические изменения печени при экспериментальной острой кишечной инфекции в условиях терапии коллоидным наноаквахелатом серебра /Е.С. Половьян [и др.] // Клиническая и экспериментальная морфология – 2012. - №4. - С.37-41.

96. Морфологическая характеристика естественного течения хронической HCV- инфекции при различных темпах прогрессирования заболевания / Ю.В. Лобзин [и др.]. // Вестник Санкт-Петербургского университета - Сер. 11. - 2008. - Вып.4. - С. 91-101.

97. Морфологическая характеристика HCV-цирроза печени / В.С. Чирский [и др.] // Архив патологии. – 2009. – Т.71, №6. – С.29-32.

98. Мукомолов, С.Л. Эпидемиологическая характеристика хронических вирусных гепатитов в Российской Федерации в 1999 – 2009гг. / С.Л. Мукомолов, И.А. Левакова // Инфекция и иммунитет. – 2011. – Т. 1, No 3. –С. 255–262.

99. Натуральные киллеры и апоптоз гепатоцитов при хронических вирусных гепатитах /Г.К. Мироджов [и др.] // Доклады Академии наук Республики Таджикистан. – 2006. – Т.49, №2. – С. 172-177.

100.Непомнящих, Д.Л. Биопсия печени: Патоморфогенез хронического гепатита и цирроза / Д.Л. Непомнящих, С.В. Айдагулова, Г.И. Непомнящих. М.: Изд-во РАМН. – 2006. – 368с.

101.Новиков В.С. Программированная клеточная “гибель” / В.С. Новиков. – СПб.: Наука, 1996. – 275 с.

102.Новые данные о диагностике и течении фиброза печени / С.Ф. Галимова [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2001. – № 4. – С. 22-28.

103.Олютин, Ю.А. Хронический артрит у больных, инфицированных вирусами гепатита В и С / Ю.А. Олютин // Научно-практическая ревматология. – 2008. – №5. – С. 39-46.

104.Онищенко, Г.Г., Дементьева Л.А. Распространение вирусных гепатитов как угроза национальной безопасности / Г.Г. Онищенко, Л.А. Дементьева // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2003. - №4. - С.93-99.

105.Онищенко, Г. Г. О санитарно-эпидемиологической ситуации в Российской Федерации в 2009 году: Государственный доклад. — М.: Федеральный Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. — 456 с.

106.Организация медицинской помощи военнослужащим, больным хроническими вирусными гепатитами, в вооруженных силах РФ / К.В. Жданов [и др.] // Журнал инфектологии – 2012 - №4, Том4 – С.90-96.

107.Орлова, С.Н. Влияние социально-эпидемиологических и клинических факторов на качество жизни больных хроническими вирусными гепатитами / С.Н. Орлова, О.В. Дудник // Медицинский альманах. – 2013. – №1. – С.48-51.

108.Особенности микроэкологии кишечника у больных циррозом печени / К.В. Жданов [и др.] // Лечение и профилактика. – 2012. - №3. – С.36-49.

109. Оценка В-клеточного звена иммунной системы у больных хроническим гепатитом В на разных стадиях заболевания / В.Ю. Никитин [и др.] // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2008. – № 3. – С.47-54.

110. Павлов, Ч.С. Вирус гепатита В – основной этиологический фактор хронического гепатита, цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы / Ч.С. Павлов, И.Г. Бакулин // Русский медицинский журнал. – 2008. – Т.16, №4. – С. 157-160.

111. Павлов, Ч.С. Принципы диагностики и подходы к терапии фиброза и цирроза печени. / Ч.С. Павлов // Рос. мед. журн. – 2007. – Т. 9, № 1. – С. 11–15.

112. Пальцев, И.В. Взаимосвязь мутаций в гене гемохроматоза, синдрома перегрузки железом и фиброза при хроническом гепатите С / И.В. Пальцев, А.Л. Калинин // Здравоохранение. – 2013. – №7. – С.4-9.

113. Пальцев, М. А. Фундаментальные науки и развитие молекулярной медицины / М. А. Пальцев // Молекулярная медицина. – 2003. – № 1. – С. 4-12.

114. Пальцев, М.А. Межклеточные взаимодействия / М.А. Пальцев, А.А. Иванов, С.Е. Северин. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2003. – 288 с.

115. Патогенетические аспекты хронического гепатита и гепатоцеллюлярной карциномы, ассоциированных с вирусом гепатита В / И.Я. Шапиро [и др.] // Инфекционные болезни. – 2005. – Т. 3, № 2. – С. 62-65.

116. Пинцани, М. Эволюция фиброза печени: от гепатита к циррозу / М. Пинцани // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, коло-проктологии. – 2002. – № 5. – С. 4-9.

117.Пирогова, И.Ю. Скрининговое обследование больных диффузными заболеваниями печени / И.Ю. Пирогова // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 2010. – № 3. – С. 46-54.

118. Повреждение ДНК лимфоцитов и вторичные иммунодефицитные состояния при различных заболеваниях / Е.Ю. Москалева [и др.] // Успехи клинической иммунологии и аллергологии. – 2000. – Т. 1. – С. 38-71.

119. Подымова, С.Д. Болезни печени / С.Д. Подымова – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1998. – 704 с.

120. Подымова, С.Д. Болезни печени / С.Д. Подымова – 2-е изд. – М.: Медицина, 1993. – 544 с.

121. Покровский, В.И. Инфекционные болезни – угроза здоровью нации / В.И. Покровский // Тер. архив. – 1995. – 11. – С.5-7.

122. Полунина, Т.Е. Хронический гепатит В / Т.Е. Полунина, И.В. Маев // Медицинский совет. – 2008. – №3. – С.34-40.

123. Полунина, Т.Е. Хронический гепатит С / Т.Е. Полунина, И.В. Маев, Е.В. Полунина // Медицинский совет. – 2009. - №1. – С.46-56.

124. Правдолюбова, И.А. Морфологические и патогенетические особенности хронического HBeAg-негативного гепатита В и хронического гепатита С / И.А. Правдолюбова // Медицинский академический журнал. – 2010. – Т.10, №3. – С.101-106.

125. При хроническом вирусном гепатите С фиброз печени ассоциирован с выраженностью некроза и воспаления, но не стеатозом / Т. Ассела [и др.] // Гепатология. – 2003. – № 6. – С. 50-55.

126. Прогностическая модель неинвазивной диагностики фиброза печени у больных хроническими вирусными гепатитами / А.А. Останин [и др.] // Медицинская иммунология. – 2008. – Т.10, №4-5. – С.405-414.

127. Протокол диагностики и лечения больных хроническими вирусными гепатитами В и С. Методические рекомендации. / Н.Д. Ющук [и др.] // Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. - 2010, №6 - С.4-60.

128. Профиль цитокинов и хемокинов в плазме крови пациентов с хроническим гепатитом С /К.А. Сысоев, А.Б. Чухловин, Д.М. Шахманов [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2013. – Т.3, №1. – С.49-58.

129. Процессы апоптоза и пролиферации при патологии желудочно-кишечного тракта и печени / В.Т. Ивашкин [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2002. – № 6. – С. 38-43.

130. Пурлик, И.Л. Возможности прогнозирования избыточного фиброза при хроническом вирусном гепатите С по первичной биопсии / И.Л. Пурлик, В.М. Перельмутер, Е.В. Белобородова // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – №3. – С. 59-61.

131. Путилова, Е.А. Клинико-иммунологическая эффективность Максара при хронических вирусных гепатитах / Е.А. Путилова, В.А. Иванис, Л.Ф. Скляр // Фундаментальные исследования. – 2011. – №9. – С. 484-487.

132. Разнообразие генотипов HCV-вируса и исходы хронического гепатита С: Результаты 5-летнего наблюдения на территории Кировской области /С.В. Барамзина, [и др.] // Журнал инфектологии – 2013 - №2, - Том 5, - С.43-49.

133. Распределение генотипов вируса гепатита С на территории Приморского края / Л.Ф. Скляр [и др.] // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2005. – № 1. – С. 72–74.

134. Распространенность и лабораторная характеристика хронического гепатита В в Москве /С.Л. Вознесенский [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2014. – №1. – С. 33-38.

135. Райхлин, Н.Т. Апоптоз – основные механизмы развития и роль в онкологической практике / Н.Т. Райхлин, А.Н. Райхлин // Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека – Казань, 2000. – С. 123-134.

136.Рахманова, А.Г. Хронические вирусные гепатиты в Санкт-Петербурге / А.Г. Рахманова, А.А. Яковлев, В.А. Цинзерлинг // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2013. - №2. – С.44-50.

137.Рахманова, А.Г. Хронические вирусные гепатиты и цирроз печени / А.Г. Рахманова, А.А. Яковлев, Е.Н. Виноградова [и др.] // Руководство для врачей – СПб.: спецлит, 2006. – 413 с.

138.Регенерация печени млекопитающих / А.В. Ельчанинов [и др.] // Клиническая и экспериментальная морфология – 2012. - №4. - С.57-61.

139.Роль апоптоза гепатоцитов и клеточных факторов его регулирования в прогрессировании хронического гепатита В / Д.Т.Абдурахманов [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2005. – № 2. – С. 42-46.

140. Роль мутантных форм вируса гепатита В в прогрессирующем течении хронического гепатита В / Е.А. Елпаева [и др.] // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. – 2014. - №6. – С. 41-46.

141.Роль системы FAS/FASL в индукции апоптоза гепатоцитов при хронических вирусных гепатитах / Е.В. Дмитриева [и др.] // Арх. патологии. – 2003. – № 6. – С. 13-17.

142.Северин, С.Е. Молекулярные механизмы регуляции активности клеток. Универсальные механизмы жизни и смерти клетки / С.Е. Северин, М.А. Пальцев, А.А. Иванов. // Вестн. ин-та молекулярной медицины. – 2001. – Вып. 1. – С. 5-21.

143. Сельков, С.А. Обзор современных методов лабораторной диагностики вирусных гепатитов / С.А. Сельков, М.С. Селькова // Вирусные гепатиты в Российской Федерации 2009. Справочник. - СПб.: НИИЭМ им. Пастера, 2009. — с. 62–73.

144. Селькова, М.С. Особенности содержания Т-регуляторных лимфоцитов и НК-клеток у пациентов с хроническим гепатитом С / М.С.

Селькова, А.В. Селютин, С.А. Сельков // Инфекция и иммунитет. – 2012. – Т.2, №4. – С.715-722.

145.Серов, В.В. Морфологическая диагностика заболеваний печени. / Серов В.В., Лапиш К. - М.: Медицина, 1989. – 336 с.

146.Серов В.В. Оценка новой международной классификации хронического гепатита / В.В.Серов // Арх. патологии. – 1996. – № 1. – С. 3-5.

147.Серов В.В. Хронический вирусный гепатит / В.В Серов, З.Г. Апросина. – М.: Медицина, 2002. – 337 с.

148.Синдром избыточного бактериального роста у больных хроническим гепатитом С / К.В. Жданов [и др.] // Журнал инфектологии. – 2011. – Том 3, №4. – С.98-101.

149.Система FAS – FASL в норме и патологии / С.Г. Аббасова [и др.] // Вопр. биол., мед. и фармакол. химии. – 1999. – № 3. – С. 3-17.

150. Скляр, Л.Ф. Роль системы цитокинов в гепатоцеллюлярном повреждении при хроническом гепатите С / Л.Ф. Скляр // Медицинская иммунология. – 2006. – Т.8, №1. – С.81-86.

151.Снижение фиброгенеза: иммуногистохимическое исследование парной биопсии клеток печени после проведения терапии ламивудином у пациентов с хроническим гепатитом В / Янг-О. Куеон [и др.] // Инфекции и антимикробная терапия. – 2003. – № 3. – С. 79-83.

152.Современные представления о патогенезе, диагностике и лечении фиброза печени / Ч.С. Павлов [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2005. – № 2. – С. 13-20.

153.Современные представления о хронической HBV-инфекции / В.В. Горбаков [и др.] // Гепатология. – 2003. – № 2. – С. 54-63.

154. Соринсон, С.Н. Мутантный HBVe-вариант хронического гепатита В с сохраняющейся репликативной активностью / С.Н. Соринсон, Е.А. Фомин // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 1995. – № 2. – С. 69-73.

155. Соринсон, С.Н. Вирусные гепатиты в клинической практике / С.Н. Соринсон. – СПб.: Теза, 1996. – 306 с.

156. Сравнительная клиничко-лабораторная характеристика HBeAg-позитивных и HBeAg-негативных хронических гепатитов В / А.Л. Раков [и др.] // Гепатология. – 2003. – № 2. – С. 48-52.

157. Сухорук, А.А. Цирроз печени как исход хронического гепатита С / А.А. Сухорук, О.А. Герасимова, Е.В. Эсауленко // Журнал инфектологии. – 2014. – Т.6, №1. – С.67-71.

158. Сфера клинического применения неинвазивных методов оценки фиброза печени: результаты собственных исследований в многопрофильном стационаре / Ч.С. Павлов [и др.] // Клин. мед. – 2009. – № 9. – С.40–45.

159. Сывороточные маркеры фиброза в диагностике и лечении хронического гепатита С / Ю.В. Лобзин [и др.] // Инфекционные болезни. – 2005. - №3. – С.28-30.

160. Тареев, Е.М. Болезнь Боткина и рак печени // Тезисы докладов научной сессии, посвященной проблеме инфекционного гепатита (болезнь Боткина). – Киев, 1960. – С. 50.

161. Терапевтическая эффективность препаратов интерферона при хроническом вирусном гепатите С / А.К. Токмалаев [и др.] // Вестник РУДН, сер. Медицина. – 2006. - №2. – 116-119.

162. Фенотип и функции дендритных клеток у больных хроническими вирусными гепатитами / О.Ю. Леплина [и др.] // Медицинская иммунология. – 2009. – Т.11, №2-3. – С.191-196.

163. Хазанов, А.И. Итоги длительного изучения (1946 – 2005) этиологии циррозов печени у стационарных больных / А.И. Хазанов // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. - 2006. - №2. – С.11-18.

164. Хазанов, А.И., Связь циррозов печени с инфицированностью вирусами гепатитов В и С. / А.И. Хазанов, А.С. Ивлев, А.П. Васильев // Рос. журнал гастроэн., гепатол., колопроктол. — 1994. — No2. — С. 16-19.

165. Хаитов, Р.М. Иммунология / Р.М. Хаитов, Г.А. Игнатьева, И.Г. Сидорович. – М.: Медицина, 2000. – 430 с.

166. Характеристика современных эпидемиологических закономерностей парентеральных вирусных гепатитов в Российской Федерации / И.В. Шахгильдян [и др.] – М., 2007. – 346 с.

167. Характеристика хронических заболеваний печени с наличием сывороточных маркеров вируса гепатита В / З.Г. Апросина [и др.] // Терапевт. арх. – 1988. – № 11. – С. 23-28.

168. Характеристика хронических парентеральных вирусных гепатитов в Российской Федерации. Обоснование необходимости и оценка эффективности вакцинации против гепатитов А и В больных хроническими заболеваниями печени / И.В. Шахгильдян [и др.] // Журнал инфектологии. – 2010. – Т. 2, № 4. – С. 127–128.

169. Хомерики, С.Г. Механизмы физиологической и репаративной регенерации в органах пищеварительной системы / С.Г. Хомерики // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. (Приложение № 7: Материалы 15 Юбилейной сессии Академической школы-семинара имени А.М. Уголева «Современные проблемы физиологии и патологии пищеварения». 5-8-апреля 1999 г., Пущино-на-Оке) – 1999. – № 4. – С. 87-93.

170. Хроническая HCV-инфекция: современные иммуноморфологические аспекты / Л.Ф. Скляр [и др.] – М.: Изд-во РУДН. – 2006. – 213 с.

171. Хронические вирусные гепатиты как основные факторы риска развития гепатоцеллюлярной карциномы в Якутии/ТТ. Бугаева [и др.]//Сибирский медицинский журнал. – 2007. – №2. – С. 47-49.

172. Хронические вирусные гепатиты и их исходы: что нас ждет в ближайшее десятилетие /А.А. Яковлев [и др.] // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2015. – №2. – С.13-21.

173. Хронические вирусные гепатиты и цирроз печени: руководство для врачей / А.Г. Рахманова [и др.]. — СПб.: Спецлит., 2006. — 413 с.

174. Хронические гепатиты в Российской Федерации / И.В. Шахгильдян [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2008. - №6. — С.12-15.

175. Хронические гепатиты как моно- и микст-инфекции в Санкт-Петербурге / В.Ю. Назаров [и др.] // Эпидемиология, микробиология, инфекционные и паразитарные болезни. — 2012. — №3. — С.64-69.

176. Хронический гепатит С: возможности и перспективы противовирусной терапии / В.В. Малеев [и др.] // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. — 2008. - №3. — С.37-41.

177. Хронический гепатит С: клинико-эпидемиологические аспекты / В.К. Чернова [и др.] // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. — 2010. - №1. — С.58-63.

178. Хронический гепатит С у ВИЧ-инфицированных пациентов / С.В. Моисеев [и др.] // Клиническая фармакология и терапия. — 2011. — Том 20, №4. — С. 62-68.

179. Хронические гепатиты В и С: современные достижения науки и практики / F.Bonino [et al.] // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 1994. — № 2. — С. 30-31.

180. Хронический микст-гепатит В+С: клинические варианты / С.В. Айдагулова [и др.] // Фундаментальные исследования. — 2011. — №10. — С. 457-461.

181. Цинзерлинг, А.В. Современные инфекции. Патологическая анатомия и вопросы патогенеза / А.В. Цинзерлинг, В.А. Цинзерлинг - 2-е изд. СПб.: Сотис, 2002.- 352 с.

182. Цитокиновый профиль у больных хроническими вирусными гепатитами с фиброзом и циррозом печени / Е.Р. Черных [и др.] // Медицинская иммунология. – 2006. – Т.8, №4. – С.539-546.

183. Чуров, А. В. Роль трансформирующего фактора роста β в формировании иммуносупрессии в онкогенезе / А. В. Чуров, Е. К. Олейник, В. М. Олейник // Цитокины и воспаление. — 2009. — Т. 8, № 3. — С. 11–15.

184. Шапиро, И.Я. Гепатоцеллюлярная карцинома, ассоциированная с HBV. Особенности эпидемиологии, клиники и морфологии. Клеточно-молекулярные аспекты патогенеза и диагностики / Шапиро И.Я., Карев В.Е. Под. ред. А.В.Шаброва.—М.: Триада Лтд., 2007. - 167 с.

185. Шапошникова, Е.В. Хронические вирусные гепатиты В и С при беременности: особенности течения и перинатальные исходы / Е.В. Шапошникова, О.О. Сапругько // Медицинский альманах. – 2014. - №4. – С.52-55.

186. Шахильдян, И.В. Парентеральные вирусные гепатиты (эпидемиология, диагностика, профилактика) / И.В. Шахильдян, М.И. Михайлов, Г.Г. Онищенко // – М.: ГОУ ВУНМЦ МЗРФ, 2003. – 384 с.

187. Шевалдин, А.Г. Хронический гепатит С и резидентные макрофаги печени / А.Г. Шевалдин // Фундаментальные исследования. – 2010. - №2, С.138-147.

188. Шерлок Ш. Заболевания печени и желчных путей : пер. с англ. / Ш. Шерлок, Дж. Дули ; под ред. З. Г. Апросиной, Н.А. Мухина. – М.: Гэотар медицина, 1999. – 859 с.

189. Шерлок, Ш. Заболевания печени и желчных путей: практическое руководство / Ш. Шерлок, Дж. Дули - пер. с англ. – М. : Гэотар Медицина, 2002. – С. 864.

190. Щекотова, А.П. Маркеры поражения эндотелия и агрегация тромбоцитов при хроническом гепатите и циррозе печени / Клиницист. – 2012. – №1. – С.31-35.

191. Экспрессия хемокинов и их рецепторов в крови и ткани печени при хроническом вирусном гепатите С / К.В. Жданов [и др.] // Медицинская иммунология. – 2007. – Т.9, №4-5. – С.379-388.

192. Эпидемиологические закономерности и современные подходы к вакцинопрофилактике гепатита В / И.В. Шахгильдян [и др.] // Гепатология. – 2003. – № 2. – С.4 – 10.

193. Эпидемиологическая характеристика хронических гепатитов В и С в Российской Федерации / И.В. Шахгильдян [и др.]. // Мир вирусных гепатитов. – 2008. - №5. – С. 11-16.

194. Эпидемический гепатит / Е.М. Тареев [и др.]. – М.: Медицина, 1970. – 448 с.

195. Эсауленко, Е.В. Гепатит С: взгляд на проблему / Е.В. Эсауленко // В мире вирусных гепатитов. – 2013. – № 4. – С. 14–19.

196. Acute exacerbation and hepatitis B virus clearance after emergence of YMDD motif mutation during lamivudine therapy / Yun-Fan Liav [et al.] // Hepatology. – 1999. – Vol. 30, № 2. – P. 567-572.

197. Acute liver failure is associated with elevated liver stiffness and hepatic stellate cell activation/ A. Dechene [et al.]. // Hepatology. - 2010. - Vol. 52, №3. - P.1008-1016.

198. Acute-on-chronic liver failure: current concepts on definition, pathogenesis, clinical manifestations and potential therapeutic intervention / W. Laleman [et al.] // Expert Rev Gastroenterol Hepatol. – 2011. - Vol. 5, №4. - P.523-537.

199. Alberti, A. Natural history of hepatitis C / A. Alberti, L. Chemello, L. Benvegna // J. Hepatology. - 1999. - Vol. 31. - P. 17-24.

200. Alcolado, R. Pathogenesis of liver fibrosis / R. Alcolado, M.G.P. Arthur, J.P. Iredale // Clin. Sci. – 1997. – Vol. 92, N 2. – P. 103-112.

201. Analysis of histopathological manifestations of chronic hepatitis C virus infection with respect to virus genotype / S. Mihm [et al.]. // *Hepatology*. – 1997. – Vol. 25. – P. 735-737.

202. Analysis of proliferating hepatocytes using a monoclonal antibody against proliferating cell nuclear antigen/cyclin in embedded tissues from various liver diseases fixed in formaldehyde / N. Kawakita [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 1992. – Vol. 140, N 2. – P. 513-520.

203. Apoptosis in liver diseases — detection and therapeutic applications / S. Ghavami [et al.] // *Med. Sci. Monit.* — 2005 – V. 11, N. 11. – P. 337–345.

204. Apoptosis-related proteins, BCL-2, BAX, FAS, FAS-L and PCNA in liver biopsies of patients with chronic hepatitis B virus infection / Jr. J. Ehrmann [et al.] // *Pathol. Oncol. Res.* – 2000. – Vol. 6, N 2. – P. 130-135.

205. Appearance of α -smooth-muscle-actin-positive cells in hepatic fibrosis / T. Nouchi [et al.] // *Liver*. – 1991. – Vol. 11, N 2. – P. 100 – 105.

206. Association of transforming growth factor-beta 1 functional polymorphisms with natural clearance of hepatitis C virus / T. Kimura [et al.] // *J. Infect. Dis.*— 2006.— Vol. 193, N 10.— P. 1371—1374.

207. Balabaud, C. The role of hepatic stellate cells in liver regeneration / C. Balabaud, P. Bioulac-Sage, A. Desmouliere // *J. Hepatol.* — 2004. — Vol. 40. – P. 1023–1026.

208. Bataller, R. Liver fibrosis / R. Bataller, D.A. Brenner // *Clin. Invest.* — 2005. — Vol. 115. — P. 209–218.

209. Bekku, D. Long-term follow-up of patients with hepatitis B e antigen negative chronic hepatitis B / D. Bekku [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2011. – V. 26. – P. 122–128.

210. Berke, G. Killing mechanisms of cytotoxic lymphocytes / G. Berke // *Curr. Opin. Hematol.* – 1997. – Vol. 4, N 1. – P. 32-40.

211. Biology and significance of T-cell apoptosis in the liver / S. Park [et al.] // *Immunol. Cell Biol.* – 2002. – Vol. 80, N 1. – P. 74–83.

212. Bim-mediated deletion of antigen-specific CD8 T cells in patients unable to control HBV infection / A.R. Lopes [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2008. – Vol. 118. – P. 1835–1845.
213. Bissell, D.M. Transforming growth factor b and the liver / D.M. Bissell, D. Roulot, J. George // *Hepatology.* – 2001. – Vol. 34, N 5. – P. 859-867.
214. Bjornsson, E. Hepatitis C and steatosis / E. Bjornsson, P. Angulo // *Arch Med Res* - 2007. – Vol. 38 (suppl.6). – P. 621-627.
215. Blumberg, B. S. Hepatite et prevention du carcinome hepatocellulare / B.S. Blumberg // *Nouv. Presse. Med.* – 1982. – Vol. 11, N 12. – P. 903-905.
216. Bondini, S. Non-alcoholic fatty liver disease and hepatitis C infection / S. Bondini, Z.M. Younossi // *Minerva Gastroenterol Dietol* – 2006. - Vol. 52 (suppl.2) – P. 135-143.
217. Border, W.A. Transforming growth factor-b in disease: the dark side of tissue repair / W.A. Border, E. Ruoslahti // *J. Clin. Invest.* – 1992. – Vol. 90, N 1. – P. 1-7.
218. Brenner, D.A. New aspects of hepatic fibrosis / D.A. Brenner, T. Waterboer // *J. Hepatol.* – 2000. – Vol. 32, Suppl. 1. – P. 32–38.
219. Can hepatic stellate cells express alpha-smooth muscle actin in normal human liver? / S. Lepreux [et al.] // *Liver.* – 2001. – Vol. 21, N 4. – P. 293-294.
220. CD95/CD95L – mediated apoptosis of the hepatitis stellate cell. A mechanism of terminating uncontrolled hepatic stellate cell proliferation during hepatic tissue repair / B. Saile [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 1997. – Vol. 151, N 5. – P. 1265-1272.
221. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67 / J. Gerdes [et al.] // *J. Immunol.* – 1984. – Vol. 133, N 4. – P. 1710-1715.
222. Changes in serum cytokine concentration: a morphological study of liver cirrhosis induced by common bile duct ligation in rats / B.S. Lee [et al.] // *Korean J. Intern. Med.* – 2003. – Vol. 18, N 1. – P. 6-12.

223. Characterization of hepatitis B virus (HBV) – specific T-cell dysfunction of chronic HBV infection / C. Boni [et al] // J. Virol. – 2007. – Vol. 81. – P. 4215–4225.

224. Chen, C. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level / C. Chen [et al.] // JAMA. – 2006. – V. 295, No 1. – P. 65–73.

225. Chisari, F.V. Viruses, immunity, and cancer: lessons from hepatitis B / F.V. Chisari // Am. J. Pathol. – 2000. – Vol. 156, N 4. – P. 1118-1132.

226. Chronic liver disease and primary liver-cell cancer hepatitis-associated (Australia) antigen in serum / S. Sherlock [et al.] // Lancet. – 1970. – Vol. 1, N 7569. – P. 1243-1245.

227. Chu, C.M. Natural history of chronic hepatitis B virus infection in adults with emphasis on the occurrence of cirrhosis and hepatocellular carcinoma / C.M. Chu // J. Gastroenterol. Hepatol. – 2000. – Vol. 15, Suppl. – P. 25-30.

228. Ciuffreda, D. Update on hepatitis C virus-specific immunity / D. Ciuffreda, A.Y. Kim // Curr Opin HIV AIDS. – 2011. – Vol.6., - P.409-412.

229. Cressman, D.E. Rapid activation of the STAT3 transcription complex in liver regeneration / D.E. Cressman, R.H. Diamond, R.Taub // Hepatology. – 1995. – Vol. 21, N 5. – P. 1443-1449.

230. Cytokine gene expression in cirrhotic and non-cirrhotic human liver / L. Leorent [et al.] // J. Hepatol. – 1996. – Vol. 24, N 5. – P. 555-563.

231. Cytokines induced during chronic hepatitis B virus infection promote a pathway for NK cell-mediated liver damage / C. Dunn [et al] // J. Exp. Med. – 2007. – Vol. 204. – P. 667–680.

232. Cytotoxic T lymphocytes inhibit hepatitis B virus gene expression by a noncytolytic mechanism in transgenic mice / L.G.Guidotti [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1994. – Vol. 91, N 9. – P. 3764-3768.

233. Decorin and actin expression and distribution in patients with chronic hepatitis C following interferon-alfa-2b treatment / K. Jarmay [et al.] // J. Hepatol. – 2000. – Vol. 32, N 6. – P. 993-1002.

234. Decreasing fibrogenesis: an immunohistochemical study of paired liver biopsies following lamivudine therapy for chronic hepatitis B / Y.O. Kweon [et al.] // J. Hepatol. – 2001. – Vol. 35, N 6. – P. 749-755.

235. Denk, H. What expected from the pathologist in the diagnosis of viral hepatitis? / H. Denk // Virchows Arh. – 2011. – Vol. 458, №4. – P.377-392.

236. Desmet, V.J. Ductal plates in hepatic ductular reactions. Hypothesis and implications. I. Types of ductular reaction reconsidered / V.J. Desmet // Virchows Arch. – 2011. - Vol.458, №3. - P.251-259.

237. Detection of HCV by PCR in serum and PBMC of patients with hepatitis C after treatment / N.deP. Cavaleiro [et al.] // Braz. J. Infect. Dis. – 2007. – Vol. 11. – P. 471-474.

238. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C / D.B. Strader [et al.] // Hepatology. – 2004. – Vol. 39. – P. 1147–1171.

239. Dual expression of matrix metalloproteinase-2 and membrane-type 1-matrix metalloproteinase in fibrotic human livers / T. Takahara [et al.] // Hepatology. –1997. – Vol. 26, N 6. – P. 1521-1529.

240. EASL International Consensus Conference On Hepatitis B. Consensus statement (Long version) // J. Hepatology.— 2003.— N 39.— P.3-25.

241. EASL Clinical Practice Guidelines: management of chronic hepatitis B // J. Hepatol. – 2009. – Vol. 50. – P. 227–242.

242. Estebahn, J.L. Hepatitis C: Molecular biology, pathogenesis, epidemiology, clinical features and prevention / J.L. Estebahn, J. Genesca, H.J. Alter // Progress in Liver Diseases – 1996. - Vol.12. – P. 253- 282.

243. Effect of hepatitis B and C virus infections on the natural history of compensated cirrhosis: a cohort study of 297 patients / G. Fattovich [et al.]. // Am J. Gastroenterol.— 2002.— N 97.— P. 2886—2895.

244. Enhanced apoptosis of peripheral blood leucocytes in chronic viral hepatitis / A.O. Bueverov [et al.] // Gut. – 2000. – Vol. 47, Suppl. 3. – P. A181.
245. Endl, E. The Ki-67 protein: fascinating forms and an unknown function / E. Endl, J. Gerdes // Exp. Cell Res. – 2000. – Vol. 257, N 2. – P. 231-237.
246. Expression of alpha-smooth muscle actin in liver diseases / E Yu [et al.] // J. Korean Med. Sci. – 1993. – Vol. 8, N 5. – P. 367-373.
247. Expression patterns matrix metalloproteinases and their inhibitors in parenchymal non-parenchymal cells of rat liver: regulation by TNF- α and TGF β 1 / T. Knittel [et al.] // J. Hepatol. – 1999. – Vol. 30, N 1. – P. 48-60.
248. Evidence for the involvement of TGF- β 1-CTGF axis in liver fibrogenesis secondary to hepatic viral infection / D. Tache, Fl. Bogdan, C. Pisoschi [et al.] // Rom J Morphol Embryol. – 2011. – Vol.52 (1 Suppl). – P.409-412.
249. Farci, P. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes and quasispecies / P. Farci, R.H. Purcell // Semin. Liver Dis. - 2000. - Vol. 20. - P. 103-126.
250. Fas antigen expression in liver tissues of patients with chronic hepatitis B / K. Mochizuki [et al.] // J. Hepatol. – 1996. – Vol. 24, N 1. – P. 1-7.
251. Fattovich, G. Progression of hepatitis B and C to hepatocellular carcinoma in Western countries / G. Fattovich // Hepatogastroenterology. – 1998. – Vol. 45, Suppl. 3. – P. 1206-1213.
252. Faubion, W.A. Death receptors in liver biology and pathobiology / W.A. Faubion, G.J. Gores // Hepatology. – 1999. – Vol. 29, N 1. – P. 1-4.
253. Feldmann, G. Liver apoptosis / G.Feldmann // J. Hepatol. – 1997. – Vol. 6, Suppl. 2. – P. 1-11.
254. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic active hepatitis / R.G. Knodell [et al.] // Hepatology.- 1981. – Vol. 1, N 5. – P. 431-435.

255. Friedman, S.L. Hepatic stellate cells / S.L. Friedman // *Prog. Liver Dis.* – 1996. – Vol. 14. – P. 101-130.
256. Friedman, S.L. Molecular mechanisms of hepatic fibrosis and principles of therapy / S.L. Friedman // *J. Gastroenterol.* – 1997. – Vol. 32, N 3. – P. 424 – 430.
257. Friedman, S.L. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury / S.L. Friedman // *J. Biol. Chem.* – 2000. – Vol. 275, N 4. – P. 2247-2250.
258. Friedman, S.L. Reversal of hepatic fibrosis – fact or fantasy? / S.L. Friedman, M.B. Bansal // *Hepatology.* – 2006. – Vol. 43, N 2 (suppl. 1). – P. 82–88.
259. Friedman, S.L. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. The cellular basis of hepatic fibrosis. Mechanisms and treatment strategies / S.L. Friedman // *N. Engl. J. Med.* – 1993. – Vol. 328, N 25. – P. 1828-1835.
260. Frommel, T.O. Immunohistochemical evaluation of BCL-2 gene family ex-expression in liver of hepatitis C and cirrhotic patients: A novel mechanism to explain the high incidence of hepatocarcinoma in cirrhotics / T.O. Frommel, S. Young, E.J. Zarling // *Am. J. Gastroenterol.* – 1999. – Vol. 94, N 1. – P. 178-182.
261. Functional restoration of HCV-specific CD8 T cells by PD-1 blockade is defined by PD-1 expression and compartmentalization / N. Nakamoto [et al.] // *Gastroenterology.* – 2008. – Vol. 134. – P. 1927–1937.
262. Funk, M.L. World-wide epidemiology of HBeAg-negative chronic hepatitis B and associated precore and core promoter variants / M.L. Funk, D.M. Rosenberg, A.S.F. Lok // *J. Viral Hepatitis.* – 2002. – Vol. 9, N 1. – P. 52-61.
263. Galossi, A., Guarisco R., Bellis L., Puoti C. Extrahepatic manifestations of chronic HCV infection / A. Galossi [et al.] // *J. Gastrointestin. Liver Dis.* – 2007. – Vol.16, №1. – P. 65-73.

264. Göbel, T. High prevalence of significant liver fibrosis and cirrhosis in chronic hepatitis B patients with normal ALT in central Europe / T. Göbel [et al.] // *J. Med. Virol.* – 2011. – V. 83, No 6. – P. 968–973.

265. Gressner, A.M. Molecular mechanisms of liver fibrogenesis – a homage to the role of activated fat-storing cells / A.M. Gressner, M.G. Bachem // *Digestion.* – 1995. – Vol. 56, N 5. – P. 335-346.

266. Gressner, A.M. Transdifferentiation of hepatic stellate cells (Ito cells) to myofibroblasts – a key event in hepatic fibrogenesis / A.M. Gressner // *Kidney Int. Suppl.* – 1996. – Vol. 54. – S. 39-45.

267. Guinebretiere, J.M. Ki-67, marker of proliferation / J.M. Guinebretiere, J.C. Sabourin // *Ann. Pathol.* – 1997. – Vol. 17, N 1. – P. 25-30.

268. Gutierrez-Ruiz, M.C. Liver fibrosis: searching for cell model answers / M.C. Gutierrez-Ruiz, L.E. Gomez-Quiroz // *Liver Intern.* 2007. 10. 434-439.

269. Hall, P.A. Invited review: Immunohistochemical markers of cellular proliferation: achievements, problems and prospects / P.A. Hall, A.L. Woods // *Cell Tiss. Kinet.* – 1990. – Vol. 23, N 6. – P. 505-522.

270. Hautekeete, M.L. The hepatic stellate (Ito) cell: its role in human liver disease / M.L. Hautekeete, A. Geerts // *Virchows Arch.* – 1997. – Vol. 430, N 3. – P. 195-207.

271. HCV core protein induces hepatic lipid accumulation by activating SREBP1 and PPARgamma / K.N. Kim [et al.] // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2007. – Vol.20;335 (suppl.4). P.883-888.

272. Hepatic alpha-smooth muscle actin expression in hepatitis C patients before and after interferon therapy / M.A.Khan [et al.] // *Hepatogastroenterology.* – 2001. – Vol. 48, N 37. – P. 212-215.

273. Hepatic macrophages promote the neutrophil-dependent resolution of fibrosis in repairing cholestatic rat livers / M.W. Harty [et al.] // *Surgery.* — 2008. — Vol. 143(5). — P. 667–678.

274. Hepatic stellate cell activation and liver fibrosis are associated with necroinflammatory injury and Th1-like response in chronic hepatitis C / G.S. Baroni [et al.] // *Liver*. – 1999. – Vol. 19, N 3. – P. 212-219.

275. Hepatic stellate cell immunodetection and cirrhotic evolution of viral hepatitis in liver allografts / M. Guido [et al.] // *Hepatology*. – 1997. – Vol. 26, N 2. – P. 310–314.

276. Hepatic stellate cell/myofibroblast subpopulations in fibrotic human and rat livers / D. Cassiman [et al.] // *J. Hepatol.* – 2002. – Vol. 36, N 2. – P. 200–209.

277. Hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B in Hong Kong / H.L. Chan [et al.] // *Hepatology*. – 2000. – Vol. 31, N 3. – P. 763-768.

278. Hepatitis C infection in Alaska with persistently normal, persistently elevated or fluctuating alanine aminotransferase levels / M.G. Bruce [et al.] // *Liver Int.* – 2006. – Vol. 26 – No 6. – P. 9– 643.

279. Hepatitis C virus activates Bcl-2 and MMP-2 expression through multiple cellular signaling pathways / Y. Li [et al.] // *J Virol*. — 2012 – V.86, N.23 — P. 12531–12543.

280. Hepatitis C virus carriers with persistently normal ALT levels: biological peculiarities and update of the natural history of liver disease at 10 years / M. Persico [et al.] // *J Viral Hepat.* – 2006.–Vol.13., No5. – P.289.

281. Hepatitis C virus core protein inhibits apoptosis via enhanced Bcl-xL expression. / M. Otsuka, [et al.] // *Virology*. — 2002. — V. 296. N.1. — P. 84–93.

282. Hepatitis C virus induces proteolytic cleavage of sterol regulatory element binding proteins and stimulates their phosphorylation via oxidative stress / G. Waris [et al.] // *J Virol* – 2007. – Vol. 81 (suppl.15). – P. 8122-8130.

283. Hepatocellular proliferation and development of hepatocellular carcinoma: a case-control study in chronic hepatitis C / U. Dutta [et al.] // *Hum. Path.* – 1998. – Vol. 29, N 11. – P. 1279-1284.

284. 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 / F. Farinati [et al.] // *Hepatology*. – 1996. – Vol. 23, N 6. – P. 1468-1475.

285. Hepatocyte proliferative activity in human liver cirrhosis / M.Delhaye [et al.] // *J. Hepatol.* – 1999. – Vol. 30, № 3. – P. 461-471.

286. Hepatocyte steatosis is a cytopathic effect of hepatitis C virus genotype 3 / L. Rubbia-Brandt [et al.]. // *J. Hepatol.* - 2000. - Vol. 33. - P. 106-115.

287. Herzer, K. Hepatitis viruses: live and let die / K. Herzer, M.F. Sprinzl, P.R. Galle // *Liver Int.* – 2007. – Vol.27. – P.293-301.

288. Hoofnagle, J.H. Hepatitis C: the spectrum of disease / J.H. Hoofnagle // *Hepatology*. - 1997. - Vol. 26. - P. 15-20.

289. Hubscher, S.G. Histological grading and staging in chronic hepatitis: clinical applications and problems / S.G. Hubscher // *J Hepatol.* – 1998. - Vol.29 - P.1015-1022.

290. Iloeje, U. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load / U. Iloeje [et al.] // *Gastroenterology*. – 2006. – V. 130, No3. – P. 678–686.

291. Immune-mediated liver diseases: programmed cell death ligands and circulating apoptotic markers / A.E. Kremer [et al.] / *Expert. Rev. Mol. Diagn.* — 2009 –V.9., N.2. – P.139-156.

292. Immunoelectron microscopy identification of early proliferating cells in rat liver tissue during hyperplasia induced by lead nitrate / K. Rijhsinghani [et al.] // *Hepatology*. – 1993. – Vol. 17, N 4. – P. 685-692.

293. Immunohistochemical detection of bcl-2 protein in normal and pathological human liver / F.Charlotte [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 1994. – Vol. 144, N 3. – P. 460-465.

294. Immunohistochemical detection of Fas antigen in liver tissue of patient with chronic hepatitis C / N.Hiramatsu [et al.] // *Hepatology*. – 1994. – Vol. 19, N 6. – P. 1354 – 1359.

295. Immunohistochemical identification of Ito cells and their myofibroblastic in adult human liver / H. Enzan [et al.] // *Virchows Arch*. – 1994. – Vol. 424, N 5. – P. 249-256.

296. In situ investigation of Fas/FasL expression in chronic hepatitis B infection and related liver diseases / K.X.Luo [et al.] // *J. Viral Hepatol*. – 1997. – Vol. 4, N 5. – P. 303-307.

297. Insulin resistance in chronic hepatitis C: association with genotypes 1 and 4, serum HCV RNA level, and liver fibrosis / R. Moucari [et al.] // *Gastroenterology*. – 2008. – V. 134. – P. 416–423.

298. Induction of tumor necrosis factor a production by human hepatocytes in chronic viral hepatitis / R.Gonzalez-Amaro [et al.] // *J. Exp. Med*. – 1994. – Vol. 179, N 3. – P. 841-848.

299. Intracellular inactivation of the hepatitis B virus by cytotoxic T lymphocytes / L.G. Guidotti [et al.] // *Immunity*. – 1996 – Vol. 4, N 1. – P. 25-36.

300. Ishak, K.G. Pathologic features of chronic hepatitis. A review and update / K.G. Ishak // *Am J Clin Pathol*. – 2000. - Vol. 113. - P.40-55.

301. Isobe K. Relation between lipogranuloma formation and fibrosis, and the origin of brown pigments in lipogranuloma of the canine liver / K. Isobe, H. Nakayama, K. Uetsuka // *Comp. Hepatol*. — 2008. — Vol. 12(7). — P. 5.

302. Ito, K. Risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus infection / K. Ito [et al.] // *Scand. J. Gastroenterol*. – 2010. – V. 45, No 2. – P. 243–249.

303. Kaita, K.D. Hepatic regeneration in humans with various liver disease as assessed by Ki-67 staining of formalin-fixed paraffin-embedded liver tissue / K.D. Kaita, N. Pettigrew, G.Y. Minuk // *Liver*. – 1997. – Vol. 17, N 1. – P. 13-16.

304. Kallenberg, C.G. Vasculitis and infections: contribution to the issue of autoimmunity reviews devoted to «autoimmunity and infection» / C.G. Kallenberg, H. Tadema // *Autoimmun. Rev.* – 2008. – Vol. 8, №1. – P. 29-32.

305. Kanto, T. Immunopathogenesis of C Virus Infection: Multifaceted Strategies Subverting Innate and Adaptive Immunity / T. Kanto, N. Hayashi // *Intern. Med.* – 2006. – Vol.45, №4. – P.183-191.

306. Ki-67 expression as a prognostic marker in patients with hepatocellular carcinoma / K.L. King [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 1998. – Vol. 13, N 3. – P. 273-279.

307. Ki-67 expression during rat liver regeneration after partial hepatectomy / C. Gerlach [et al.] // *Hepatology.* – 1997. – Vol. 26, N 3. – P. 573-578.

308. Kitamura, T. Liver regeneration, liver cancers and cyclins / T.Kitamura, S.Watanabe, N.Sato // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 1998. – Vol. 13, Suppl. – S. 96-99.

309. Kojiro, M. Focus on dysplastic nodules and early hepatocellular carcinoma:an Eastern point of view/ M. Kojiro // *Liver Transplant.* – 2004. – Vol. 10, N 2. – P. 3–8.

310. Kolios, G. Role of Kupffer cells in the pathogenesis of liver disease / G. Kolios, V.Valatas, E. Kouroumalis // *World J. Gastroenterol.* — 2006. — Vol. 12(46). — P. 7413–7420.

311. Kondo, Y. Lymphotropic HCV strain can infect human primary naive CD4+ cells and affect their proliferation and IFN γ secretion activity / Y. Kondo, Y. Ueno, E. Kakazu // *J. Gastroenterol.* — 2011. — Vol. 46, N 2. — P. 232–241.

312. Korsmeyer, S.J. bcl-2 initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death / S.J. Korsmeyer // *Blood.* – 1992. – Vol. 80, N 4. – P. 879-886.

313. Kountouras, J. Apoptosis in hepatitis C / J. Kountouras, C. Zavos, D. Chatzopoulos // *J. Viral. Hepat.* — 2003. — V. 10. — P. 335–342.

314. Kupffer cell heterogeneity: functional properties of bone marrow derived and sessile hepatic macrophages / I. Klein [et al.] // *Blood*. — 2007. — Vol. 110(12). — P. 4077–4085.

315. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease / Y.F. Liaw [et al.]. // *N. Engl. J. Med.* – 2004. – Vol. 351. – P. 1521–1531.

316. Lee, U.E. Mechanisms of Hepatic Fibrogenesis / U.E. Lee, S.L. Friedman // *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* – 2011. – Vol.25 (2). – P.195-206.

317. Li, D. Liver fibrogenesis and the role of hepatic stellate cells: new insights and prospects for therapy / D.Li, S.L. Friedman // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 1999. – Vol. 14, N 7. – P. 618-633.

318. Li, M.O. Transforming growth factor- β regulation of immune responses / M.O. Li // *Annu. Rev. Immunol.* — 2006. — Vol. 24. — P. 99–146.

319. Liu, J. Disorders of hepatic sinusoids and perisinusoidal space in chronic viral hepatitis B and its relationship to hepatic fibrosis / J. Liu, J. Yan, Y. Ma // *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi.* – 2000. – Vol. 8, N 4. – P. 206–208.

320. Liver biopsy in chronic hepatitis C. Histopathology, molecular diagnostic analysis, and implications for therapeutic management / V. Dries [et al.]. // *Pathologie.* – 2001. - Vol.22. - P.362-368.

321. Liver stellate cells in chronic viral hepatitis – the effect of interferon therapy / M. Guido [et al.] // *J. Hepatol.* – 1996. – Vol. 24, N 3. – P. 301-307.

322. Lok, A.S. AASLD Practice Guidelines. Chronic hepatitis B / A.S. Lok, B.J. McMahon // *Hepatology.* – 2007. – Vol. 45, N 2. – P. 507–539.

323. Lok, A.S. AASLD Practice Guidelines. Chronic hepatitis B: Update 2009 / A.S. Lok, B.J. McMahon // *Hepatology.* – 2009. – Vol. 50. – P. 661–662.

324. Long-term outcome after spontaneous HBeAg seroconversion in patients with chronic hepatitis B / Y.S. Hsu [et al.] // *Hepatology.* – 2002. – Vol. 35, N 6. – P. 1522-1527.

325. Long-term outcome of hepatitis B e antigen-positive patients with compensated cirrhosis treated with interferon alfa / G.Fattovich [et al.] // *Hepatology*. – 1997. – Vol. 26, N 5. – P. 1338-1342.

326. Long-term therapy with adefovir dipivoxil for HBeAg-negative chronic hepatitis B for up to 5 years / S.J. Hadziyannis [et al.] // *Gastroenterology*. – 2006. – Vol. 131. – P. 1743–1751.

327. Luo, K. Fas expression and DNA impairment of hepatocyte in chronic hepatitis B / K. Luo, H. He, Y. Zhu // *Chung Hua Nei Ko Tsa Chih*. – 1996. – Vol. 35, N 11. – P. 750-752.

328. Mandell, G. Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th ed. / G. Mandell, J. Bennett, R. Dolin // Churchill Livingstone. — 2005. — P. 1451–1454.

329. Marcellin, P. Hepatitis C: the clinical spectrum of the disease / P. Marcellin // *J. Hepatology*. - 1999. - Vol. 31. - P. 9-16.

330. Mattson, L. Seroconversion to hepatitis C virus antibodies in patients with acute posttransfusion hepatitis non- A, non- B in Sweden with a second generation test / L. Mattson, L. Grillner, O. Weiland // *Scand J Infect Dis* - 1992. – Vol. 24 – P. 15- 20.

331. Mattson, L. Clinical outcome and reactivity to hepatitis C virus antigen correlated to hepatitis C viraemia: a 13-year follow-up study/ L. Mattson, A. Sonnerborg, O. Weiland // *Liver* – 1993. – Vol.13 – P. 274- 278.

332. Michalopoulos, G.K. Hepatocyte growth factor / G.K. Michalopoulos // *Hepatology*. – 1992. – Vol. 15, № 1 – P.149-155.

333. Michalopoulos, G.K. Liver regeneration / G.K. Michalopoulos, M.C. DeFrances // *Science*. – 1997. – Vol. 276, № 4. – P. 60-66.

334. Michalopoulos, G.K. Liver regeneration / G.K. Michalopoulos // *J. Cell. Physiol*. -2007. - V.213, №2. - P.286-300.

335. Natural history of decompensated hepatitis C virus-related cirrhosis. A study of 200 patients / R. Planas [et al.] // *J. Gastroenterol*.— 2004.— Vol. 40, N 5.— P. 823—830.

336. Ngatchu, T. Seroprevalence of anti- HCV in an urban child population: a pilot survey in a developing area, Cameroon / T. Ngatchu, T. Stroffolini, M. Rapicetta // *J Tropic Med and Hyg* – 1992 – Vol. 95, №1. – P. 57-61.

337. Molecular mechanism of the reversibility of hepatic fibrosis: with special reference to the role of matrix metalloproteinases / I. Okazaki [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2000. – Vol. 15, Suppl. – S. 26-32.

338. Morphological lesions detected by light and electron microcopies in chronic type hepatitis B / A. Kasprzak [et al.] // *Pol. J. Pathol.* – 2002. – Vol. 53, N 3. – P. 103–115.

339. Nan, X.P. Circulating CD4+CD25high regulatory T-cells and expression of PD-1 and BTLA on CD4+ T cells in patients with chronic hepatitis B virus infection / X.P. Nan, Y. Zhang, H.T. Yu // *Viral. Immunol.* – 2010. – Vol. 23, № 1. – P. 63–70.

340. Natural history and prognostic factors for chronic hepatitis B / G. Fattovich [et al.] // *Gut.* – 1991. – Vol. 32, N 3. – P. 294-298.

341. Natural history of acute hepatitis B surface antigenpositive hepatitis in Greek adults / N.C. Tassopoulos [et al.]. // *Gastroenterology.*— 1987.— N 92.— P. 1844—1850.

342. Negro, F. Mechanisms and significance of liver steatosis in hepatitis C virus infection / F. Negro // *World J Gastroenterol.* – 2006. –Vol. 14-12 (suppl.42). – P. 6756-6765.

343. Negro, F. Management of chronic hepatitis B: an update / F. Negro // *Swiss Med. Wkly.* – 2011. – No 141. – P. 1326.

344. Nicotera, P. Intracellular ATP, a switch in the decision between apoptosis and necrosis / P. Nicotera, M. Leist, E. Ferrando-May // *Toxicol. Lett.* – 1998. – Vol. 102-103. – P. 139–142.

345. Olaso, E. Molecular regulation of hepatic fibrogenesis / E. Olaso, S.L. Friedman // *J. Hepatol.* – 1998. – Vol. 29, N 5. – P. 836-847.

346. Outcome of acute hepatitis C is related to virus-specific CD4 function and maturation of antiviral memory CD8 responses / S. Urbani [et al.] // *Hepatology*. – 2006. – Vol. 44. – P. 126–139.

347. Patel, T. Apoptosis and Hepatobiliary Disease / T. Patel, G.J. Gores // *Hepatology*. – 1995. – Vol. 21, N 6. – P. 1725-1741.

348. Pathogenesis of hepatitis B and C-induced hepatocellular carcinoma / R. Idilman [et al.] // *J. Viral Hepat.* – 1998. – Vol. 5, N 5. – P. 285-299.

349. Penin, F. Structural biology of hepatitis C virus / F. Penin, J. Dubuisson, F. A. Rey // *Hepatology* - 2004. - Vol. 39. - P. 5–19.

350. Perforin and granzyme B lytic protein expression during chronic viral and autoimmune hepatitis / T. Tordjmann [et al.] // *Liver*. – 1998. – Vol. 18, N 6. – P. 391-397.

351. Perforin, Fas/Fas ligand, and TNF-alpha pathways as specific and bystander killing mechanisms of hepatitis C virus specific human CTL / K. Ando [et al.] // *J. Immunol.* – 1997. – Vol. 158, N 11. – P. 5283-5291.

352. Perillo, R.P. Acute flares in chronic hepatitis B: the natural and unnatural history of an immunologically mediated liver disease / R.P. Perillo // *Gastroenterology*. – 2001. – Vol. 120, N 4. – P. 1009-1022.

353. Predictive score for the development of hepatocellular carcinoma and additional value of liver large cell dysplasia in Western patients with cirrosis / N. Ganne-Carrie [et al.] // *Hepatology*. – 1996. – № 5. – Vol. 23. – P. 1112-1118.

354. Proapoptotic effect of the hepatitis B virus X gene / T. Pollicino [et al.] // *Biomed. Pharmacoter.* – 1998. – Vol. 52, N 9. – P. 363-368.

355. Prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen expression in hepatocellular carcinoma / I.O.L. Ng [et al.] // *Cancer*. – 1994. – Vol. 73, N 9. – P. 2268-2274.

356. Proliferative activity of hepatocytes in chronic viral hepatitis as revealed by immunohistochemistry for proliferating cell nuclear antigen / T. Nakamura [et al.] // *Human Pathol.* – 1993. – Vol. 24. – P. 750-753.

357. Proliferative and apoptotic activity in hepatocellular carcinoma and surrounding non-neoplastic liver tissue / J. Pizem [et al.] // *Pflugers Arch.* – 2001 – Vol. 442, 6 Suppl. 1. – P. 174 – 176.

358. Qu, Z. Hepatitis B virus sensitizes hepatocytes to complement-dependent cytotoxicity through downregulating CD59 / Z. Qu, X. Liang, Y. Liu // *Mol. Immunol.* – 2009. – Vol. 47, № 2–3. – P. 283–289.

359. Quantitative analysis of liver fibrosis and stellate cell changes in patients with chronic hepatitis C after interferon therapy / I. Sakaida [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* – 1999. – Vol. 94, N 2. – P. 489-496.

360. Ramadori, G. The stellate cell (Ito-cell, fat-storing cell, lipocyte, perisinusoidal cell) of the liver / G. Ramadori // *Virchows Arch. B Cell Pathol. Incl. Mol. Pathol.* – 1991. – Vol. 61, N 3. – P. 147-158.

361. Randomised trial of effects of interferon- alfa on incidence of hepatocellular carcinoma in chronic active hepatitis C with cirrhosis/ S. Nishiguchi [et al.]. // *Lancet* – 1995 – Vol. 346. – P. 45-55.

362. Rapid activation of post-hepatectomy factor/nuclear factor κ B in hepatocytes, a primary response in the regenerating liver / D.E. Cressman [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1994. – Vol. 269, N 48. – P. 30429-30435.

363. Rat liver myofibroblasts and hepatic stellate cells: different cell populations of the fibroblast lineage with fibrogenic potential / T. Knittel [et al.] // *Gastroenterology.* – 1999. – Vol. 117, N 5. – P. 1205-1221.

364. Real-time multiplex PCR assay to quantify hepatitis C virus RNA in peripheral blood mononuclear cells / P. Pugnale [et al.] // *J. Virol. Methods.* – 2006. – Vol. 133. – P. 195-204.

365. Reed, J.C. bcl-2 and regulation of programmed cell death / J.C. Reed // *J. Cell. Biol.* – 1994. – Vol. 124, N 1-2. – P. 1-6.

366. Relationship between compositions of lymphoid cell infiltrates in the liver and replication status in chronic hepatitis B. An immunohistochemistry study / J. Mosnier [et al.] // *J. Clin. Pathol.* – 1996. – Vol. 106, N 5. – P. 625-633.

367. Relationship between hepatocyte proliferative activity and liver functional reserve in human cirrhosis / M. Delhaye [et al.] // *Hepatology*. – 1996. – Vol. 23, N 5. – P. 1003-1011.

368. Relationship between serum alanine aminotransferase levels and liver histology in chronic hepatitis C-infected patients / T. Dor-Mohammadi [et al.] // *Indian J Gastroenterol*. – 2005. – Vol. 24. – No 2. – P. 49–51.

369. Rizzetto, M. Response of precore mutant chronic hepatitis B infection to lamivudine / M. Rizzetto, R. Volpes, A. Smedile // *J. Med. Virol.* – 2000. – Vol. 61, N 3. – P. 398-402.

370. Roger, K.M. Hepatic stellate cells and liver fibrosis / K.M. Roger // *Arch Pathol Lab Med*. – 2007. - Vol. 131. - P.1728-1734.

371. Role of hepatitis viruses and liver cell dysplasia in hepatocellular carcinoma / C.Vandelli [et al.] // *Hepatology*. – 1999. – Vol. 30, № 1. – P. 103-107.

372. Role of liver biopsy in management of chronic hepatitis C: a systematic review/ K.A. Gebo [et al.] // *Hepatology*. – 2002 - Vol.36. - P.161-172.

373. Roll, F.J. Role of sinusoidal endothelial cells, hepatic stellate cells, Kupffer cells, and pilt cells in the liver / F.J. Roll, S.L. Friedman // *Liver and biliary diseases* / N. Kaplowitz. – 2 ed. – 1996. – P. 33 – 51.

374. Rubbia-Brandt, L. Liver steatosis in chronic hepatitis C: morphological sign suggesting infection with HCV genotype 3 / L. Rubbia-Brandt, G. Leandro, L. Spahr // *Histopathology*. – 2001 - Vol. 39. - P.119-124.

375. Sakamoto, M. Natural history and prognosis of adenomatous hyperplasia and early hepatocellular carcinoma: multi-institutional analysis of 53 nodules followed up for more than 6 months and 141 patients with single early hepatocellular carcinoma treated by surgical resection or percutaneous ethanol injection / M. Sakamoto, S. Hirohashi // *Jpn. J. Clin. Oncol.* – 1998. – Vol. 28. – P. 604–608.

376. Seto, W.K. A large population histology study showing the lack of association between ALT elevation and significant fibrosis in chronic hepatitis B / W.K. Seto [et al.] // PLoS ONE. – 2012. – V. 7, Issue 2. – P.326-332.

377. Severe liver disease associated with prolonged exposure to antiretroviral drugs / I. Maida [et al.] // J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol. – 2006. – Vol. 42, N 2. – P. 177– 182.

378. Schuchmann, M. Apoptosis in liver / M. Schuchmann, P.R. Galle // J. Gastroenterol., Hepatol. – 2001. – Vol. 13, № 7. – P. 785-790.

379. Schuppan, D. Hepatic fibrosis: from bench to bedside / D. Schuppan, Y. Porov // J. Gastroenterol. Hepatol. – 2002. – Vol. 17, Suppl. 3. – S. 300-305.

380. Shi, S.T. Hepatitis C virus NSSA colocalizes with the are protein on lipid droplets and interacts with apoipoproteins / S.T. Shi, S.J. Pobyak, H. Tu // J. Virol.— 2002.— Vol. 292, N 2.— P. 198—210.

381. Sheuer, P.J. Liver biopsy interpretation, 7th edn./ P.J. Sheuer, J.N. Lefkowitz - WB Saunders, New York, 2005. – 448 p.

382. Shresta, S. How do cytotoxic lymphocytes kill their targets? / S. Shresta, C. Pham, D. Thomas // Curr. Opin. Immunol. – 1998. – Vol. 10, N 5. – P. 581–587.

383. Sir, D. The early autophagic pathway is activated by hepatitis B virus and required for viral DNA replication / D. Sir, Y. Tian, W.L. Chen // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2010. – Vol. 107, N 9. – P. 4383–4388.

384. Steatosis and hepatitis C virus: mechanisms and significance for hepatic and extrahepatic disease / A. Lonardo [et al.] // Gastroenterology – 2004. - Vol.126 (suppl.2) P. 256-297.

385. Steatosis as a predictive factor for treatment response in patients with chronic hepatitis C / I. Antunez [et al.] // P R Health Sci J 2004; 23 (suppl.2): 57-60.

386. Stolz, D.B. Differential modulation of hepatocyte growth factor stimulated motility by transforming growth factor- β 1 on rat liver epithelial cells in

vitro / D.B. Stolz, G.K. Michalopoulos // *J. Cell. Physiol.* – 1998. – Vol. 175, N 1. – P. 30-40.

387. Terminology of Chronic Hepatitis, Hepatic Allograft Rejection and an inter-national Working Party, Supported by the World Congress of Gastroenterology, Loss Angeles // *Am. L. Gastroenterol.* – 1994. – Vol. 89, № 8. – P. 5177-5181.

388. TGF-beta 1 in liver fibrosis: an inducible transgenic mouse model to study liver fibrogenesis / S.Kanzler [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1999. – Vol. 276, 4 Pt., N 1 – P. 1059-1068.

389. TGF-beta latency: biological significance and mechanisms of activation / P.E. Gleizes [et al.] // *Stem. Cells.* – 1997. – Vol. 15, N 3. – P. 190-197.

390. The Liver: an ultrastructural atlas and text-book of liver diseases / M.J. Philips M.J., [et al.] - Raven Press, New-York, 1987.- 585 p.

391. The natural history of asymptomatic hepatitis B surface antigen carriers / R. de Franchis [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 1993. – Vol. 118, N 3. – P. 191-194.

392. The secreted hepatitis B precore antigen can modulate the immune response to the nucleocapsid: a mechanism for persistence / D.R. Milich [et al.] // *J. Immunol.* – 1998. – Vol. 160, N 4. – P. 2013-2021.

393. TLR2-dependent induction of IL-10 and Foxp3+CD25+CD4+ regulatory T cells prevents effective anti-tumor immunity induced by Pam2 lipopeptides in vivo / S. Yamazaki [et al.] // *PLoS One.* — 2011. — Vol. 6, N 4. — P. 818-833.

394. Transfomation-dependent susceptibility of rat hepatic stellate cells to apoptosis induced by soluble Fas ligand / W. Gong [et al.] // *Hepatology.* – 1998. – Vol. 28, N 2. – P. 492-502.

395. Watts, N.R. Non-canonical binding of an antibody resembling a naïve B cell receptor immunoglobulin to hepatitis B virus capsids / N.R. Watts, G.

Cardone, J.G. Vethanayagam // *J. Mol. Biol.* – 2008. – Vol. 379, N 5. – P. 1119–1129.

396. Viral cross talk: Intracellular inactivation of the hepatitis B virus during an unrelated viral infection of the liver / L.G. Guidotti [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1996. – Vol. 93, N 10. – P. 4589-4594.

397. Vitamin A-poor lipocytes: a novel desmin-negative lipocyte subpopulation, which can be activated to myofibroblasts / G.A. Ramm [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1995. – Vol. 269, Pt. 1. – P. 532 – 541.

398. X-gene product of hepatitis B virus induces apoptosis in liver cells / H. Kim [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1998. – Vol. 273, N 1. – P. 381-385.

399. Yoon, Eugene J. Hepatitis C virus (HCV) Infection and Hepatic Steatosis / Eugene J. Yoon, Ke-Quin Hu // *Int J Med Sci* – 2006. – Vol.1. – P 53-5

400. α -Smooth-muscle-actin expression in normal and fibrotic human livers / K. Yamaoka [et al.] // *Digestive Diseases Sciences.* – 1993. – Vol. 38, N 8. – P. 1473-1479.