**Размещен на сайте ДГМА в сети Интернет 26.09.2014 г.**

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «ДАГЕСТАНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»**

**На правах рукописи**

**МУСХАДЖИЕВ АЛИМХАН АБУХАДЖИЕВИЧ**

**ПОКАЗАТЕЛИ НЕИНВАЗИВНОЙ ДИАГНОСТИКИ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С**

14.01.04 – внутренние болезни

**Д И С С Е Р Т А Ц И Я**

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук,

профессор **С.Н. Маммаев**

Махачкала – 2014

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **ОГЛАВЛЕНИЕ** | | |
| **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** 5 | | |
| **ВВЕДЕНИЕ** 8 | | |
| **ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ** 15 | | |
| 1.1. | Современные представления о фиброзе печени | 15 |
| 1.2. | Эволюция представлений о фиброзе печени | 15 |
| 1.3. | Патогенетические особенности фиброгенеза  при хронических заболеваниях печени | 18 |
| 1.3.1. | Молекулярный состав внеклеточного матрикса | 20 |
| 1.3.2. | Регуляторные механизмы фиброза печени | 22 |
| 1.3.3. | Методы диагностики фиброза печени | 27 |
| 1.4. | Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы: строение, регуляция, роль в развитии патологических состояний | 35 |
| 1.4.1. | Матриксные металлопротеиназы | 35 |
| 1.4.2. | Тканевые ингибиторы матриксных  металлопротеиназ | 39 |
| 1.4.3. | Функция металлопротеиназ и их ингибиторов  в деградации матрикса | 41 |
| 1.4.4. | О роли металлопротеиназ и их ингибиторов в  обеспечении регенерации поврежденной печени | 42 |
| **ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ** | | 46 |
| 2.1. | Материал и методы исследования | 46 |
| 2.2. | Физикальное исследование | 49 |
| 2.3. | Лабораторные исследования | 50 |
| 2.4. | Инструментальные исследования | 51 |
| 2.5. | Фиброэластометрия | 51 |
| 2.6. | Исследование содержания трансформирующего  фактора роста - β1 в сыворотке крови | 52 |
| 2.7. | Исследование содержания тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы 1 – типа в  сыворотке крови | 54 |
| 2.8. | Статистическая обработка данных | 55 |
| **ГЛАВА III.** | **КЛИНИЧЕСКАЯ, ЛАБОРАТОРНО-ИНСТРУМЕНТАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С** | 56 |
| 3.1. | Клиническая и лабораторно-инструментальная характеристика больных хроническим гепатитом С | 56 |
| 3.2. | Клиническая характеристика лиц контрольной группы | 61 |
| **ГЛАВА IV.** | **РЕЗУЛЬТАТЫ ЭЛАСТОМЕТРИИ У БОЛЬНЫХ ХГ С** | 62 |
| 4.1. | Сравнительная характеристика показателя эластичности печеночной ткани и клинико-лабораторных данных у больных ХГ С | 62 |
| 4.2 | Характеристика результатов фиброэластометрии у больных группы лечения и сравнения | 67 |
| **ГЛАВА V.** | **ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОКИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С** | 69 |
| 5.1. | Сывороточные показатели системы цитокинов  у больных хроническим гепатитом С | 69 |
| 5.2. | Клинический пример №1 | 78 |
| 5.3. | Клинический пример №2 | 80 |
| **ГЛАВА VI.** | **ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЦИТОКИНОВ**  **ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ХГ С ПегИНФ-α-2а**  **И РИБАВИРИНОМ** | 82 |
| 6.1. | Динамика показателей цитокинов при лечении  больных ХГ С ПегИНФ-α-2а и рибавирином | 86 |
| 6.2. | Оценка результатов фиброэластометрии при лечении  больных ХГ С ПегИНФ-α-2а и рибавирином | 88 |
| 6.3. | Клинический пример №1 | 90 |
| **ЗАКЛЮЧЕНИЕ** | | 93 |
| **ВЫВОДЫ** | | 102 |
| **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ** | | 103 |
| **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ** | | 104 |

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

|  |  |
| --- | --- |
| АлАТ | – аланиновая аминотрансфераза |
| АсАТ | – аспарагиновая аминотрансфераза |
| АФК | – активные формы кислорода |
| БМ | – базальная мембрана |
| ВГ С | – вирусный гепатит С |
| ВКМ | – внеклеточный матрикс |
| ГГТ | – гамма-глютамилтранспептидаза |
| ГЦК | – гепатоцеллюлярная карцинома |
| ДГМА | – Дагестанская государственная медицинская академия |
| ЗК | – звездчатые клетки |
| ИГА | – индекс гистологической активности |
| ИЛ | – интерлейкин |
| ИФ | – индекс фиброза |
| ИФА | – иммуноферментный анализ |
| КИ | – клетки Ито |
| КК | – клетки Купфера |
| кПа | – килоПаскаль |
| ММ | – межклеточный матрикс |
| ММП | – матриксная металлопротеиназа |
| МФБ | – миофибробласты |
| НАСГ | – неалкогольный стеатогепатит |
| НАДФ-Н | – никотинамидадениндинуклеотидфосфат-Н-оксидаза |
| ПегИНФ-α-2а | – пегелированный интерферон-альфа-2а |
| ПГ | – портальная гипертензия |
| ПОЛ | – перикисное окисление липидов |
| ПЦР | – полимеразная цепная реакция |
| ПЭ | – показатель эластичности |
| СВО | – стойкий вирусологический ответ |
| СК | – синусоидальные клетки |
| УВО | – устойчивый вирусологический ответ |
| ФНО-α | – фактор некроза опухоли-α |
| ФП | – фиброгенез печени |
| ХВГ | – хронический вирусный гепатит |
| ХГ С | – хронический гепатит С |
| ХЗП | – хронические заболевания печени |
| ТИМП | – тканевой ингибитор металлопротеиназы |
| ЦП | – цирроз печени |
| ЦТЛ | – цитотоксические Т-клетки |
| ЩФ | – щелочная фосфатаза |
| ЭМ | – экстрацеллюлярный матрикс |
| TGF | – трансформирующий фактор роста |
| PDGF | – тромбоцитарный фактор роста |
| IGF | – инсулиноподобный фактор роста |
| IgM | – иммуноглобулин М |
| IgG | – иммуноглобулин G |
| TNF-α | – туморнекротизирующий фактор-альфа |
| ET | – эндотелин |
| IFN | – интерферон |
| M-CSF | – моноцитарный колониестимулирующий фактор |
| DDR | – дискоидиновый домен рецептор |
| HGF | – фактор роста гепатоцитов |
| HBV | – вирус гепатита B |
| HCV | – вирус гепатита С |

**ВВЕДЕНИЕ**

**Актуальность темы исследования.** Вирус гепатита С (HCV) – это ведущая причина заболеваний печени во всем мире. По данным ВОЗ, в мире HCV инфицированы 123 млн. человек, или 2% населения [82,241].

Распространенность HCV-инфекции составляет 0,6% в Германии [217], 1,1% во Франции [123] и 2,2% в Италии [227], а в США – 1,8% [76]. У значительного числа инфицированных HCV, обычно в возрасте 20-40 лет, развивается прогрессирующий фиброз с исходом в цирроз печени, на последних стадиях сопровождающийся развитием осложнений цирроза и гепатоцеллюлярной карциномой. Прогрессирующий характер хронического гепатита С (ХГ С) был продемонстрирован при длительном наблюдении доноров, которые были инфицированы вирусом в Австрии [134]. В течение 27 лет в среднем у 93 (21%) из 435 пациентов развился компенсированный цирроз печени, у 15 (3%) – диагностирована гепатоцеллюлярная карцинома, 22 (5%) была выполнена трансплантация печени, 9 (2%) умерли [134]. Полученные данные свидетельствуют о том, что лечение ХГ С следует начинать как можно раньше, пока отсутствуют признаки прогрессирования болезни.

Фиброгенез в печени – неспецифический патологический процесс, при котором происходит замещение паренхимы печени соединительной тканью. Пристальное внимание исследователей продолжают привлекать механизмы прогрессирования хронических диффузных заболеваний печени вирусной этиологии до стадии выраженного фиброза и цирроза [39].

Результаты предшествующих клинических наблюдений и экспериментальных работ показали, что прогрессирование фиброза связано с развитием иммунного воспаления и является результатом нарушения репарации стромы и гепатоцитов в участках повреждения портальных трактов и паренхимы печени [2,9,77]. Однако, несмотря на современные достижения молекулярной и клинической гепатологии, остаются открытыми многие вопросы, касающиеся механизмов прогрессирования этого процесса.

На современном этапе проводятся многочисленные работы, в которых изучаются такие отдельные аспекты процессов фиброза печени, как увеличение профибротических цитокинов, нарушение соотношения про- и противовоспалительных цитокинов, баланса матриксных металлопротеиназ и их активности. Однако полученные результаты зачастую противоречивы [24,39,45,51,157,186].

Предполагается, что одним из ключевых звеньев развития фиброза является мощный стимулятор роста, вырабатываемый макрофагами – трансформирующий фактор роста-β1 (TGF-β1), в свою очередь регулирующий синтез внеклеточного матрикса (ВКМ) [69,85,94,135,188,220].

Обсуждается, что повышенные показатели TGF-β1, как одного из важнейших противовоспалительных цитокинов у больных ХГ С, могут отражать слабую противовирусную активность основных медиаторов воспаления, обусловленных, вероятно, непосредственным подавлением TGF-β1 экспрессии генов цитокинов интерлейкина-1, фактора некроза опухоли-альфа, так и индукцию синтеза растворимых рецепторов к ним [15,126].

Секреция ростовых цитокинов ведет к гиперпродукции соединительной ткани в зоне воспалительного инфильтрата [93,204,234,235, 243,253].

Помимо противовоспалительной активности, TGF-β1 является мощным профиброгенным фактором. Имеются единичные упоминания о том, что данный цитокин, блокируя воспалительную реакцию, одновременно стимулирует синтез коллагена и обеспечивает ремоделирование ВКМ [188].

Следует заметить, что усиление синтеза ВКМ еще не гарантирует развития фиброза. Для фиброгенеза нужно, чтобы, с одной стороны, усиливался синтез, а с другой - задерживался распад новообразованного ВКМ. В деградации преформированного ВКМ, особенно его фибриллярных белков, первостепенную роль играют особые ферменты – матриксные металлопротеиназы (ММП), профиброгенное действие которых заключается в разрушении нормального микроокружения клеток Ито с последующей их активацией [39,45].

Существуют и специфические тканевые ингибиторы металлопротеиназ (ТИМП), среди которых наибольшее значение имеет ТИМП 1-го типа, которые непосредственно регулируют активность ММП [39,186].

Ключевыми фиброгенными клетками, секретирующими ТИМП и синтезирующими коллаген, являются звездчатые клетки Ито. При хроническом повреждении печеночной ткани замедляются процессы разрушения экстрацеллюлярного матрикса, что связано с нарушенным балансом между уровнем экспрессии металлопротеиназ и их ТИМП [142,150].

До недавнего времени единственным методом диагностики фиброза печени, являлась биопсия («золотой стандарт»). Однако, данные опубликованных работ свидетельствуют, что точность этого метода в оценке стадии фиброза может существенно снижаться из-за неадекватности объема, представляемого для исследования материала (до 25-40% случаев) [29,40,42,73]. Кроме того, высокая стоимость и нежелание больных подвергаться инвазивным процедурам обусловливают необходимость разработки неинвазивных методов диагностики фиброза печени [100,113].

Накопленный опыт послужил толчком к созданию методов, позволяющих проводить неинвазивную диагностику фиброза печени – фиброэластометрию, позволяющую проводить многократные наблюдения для оценки динамики патологического процесса, в том числе и на фоне терапии, результаты которой, как показал ряд проведенных исследований, не отличались и дублировались в сравнении с показателями проводимой биопсии печени [11,199,239].

Несмотря на снижение заболеваемости HCV-инфекцией, частота серьезных осложнений гепатита С продолжает увеличиваться за счет медленного прогрессирования заболевания [237]. У пациентов с выраженным фиброзом печени и особенно циррозом, которые в наибольшей степени нуждаются в противовирусной терапии, частота стойкого вирусологического ответа (СВО) остается низкой [160,232]. Тем не менее, достижение СВО у таких пациентов позволяет значительно снизить частоту декомпенсации печени, развития гепатоцеллюлярной карциномы и смерти [102,242,258].

Изучение особенностей морфологических проявлений и молекулярных механизмов регуляции процессов пролиферации, апоптоза и клеточной дифференцировки, неоангиогенеза и фиброза при ХГ С и на фоне противовирусной терапии приведет к значительному прогрессу в понимании патогенетической сути этого заболевания.

Вышеизложенное определяет актуальность изучения показателей неинвазивной диагностики фиброза печени у больных ХГ С и служит предпосылкой для постановки цели и основных задач настоящего исследования. Диссертация выполнена по плану НИР ГБОУ ВПО «ДГМА» МЗ РФ. Номер госрегистрации темы диссертации 01201366205.

**Цель исследования:** оценить клиническую информативность неинвазивных показателей фиброза печени и их изменений на фоне противовирусной терапии у больных ХГ С.

**Задачи исследования:**

1. Изучить содержание в сыворотке крови уровня TGF-β1, ТИМП-1 типа и показателей фиброэластометрии у больных ХГ С.
2. Проанализировать связь показателей неинвазивной диагностики фиброза печени с основными клиническими и биохимическими характеристиками, определяющими активность ХГ С.
3. Изучить динамику изменений сывороточных показателей TGF-β1, ТИМП-1 типа и данных фиброэластометрии у больных ХГ С на фоне проведения противовирусной терапии пегилированным интерфероном-α-2а и рибавирином.
4. На основе полученных результатов оценить клиническое значение показателей неинвазивной диагностики фиброза печени у больных ХГ С и дать рекомендации по их практическому использованию.

**Научная новизна результатов исследования**

1. Установлено, что сывороточные показатели TGF-β1 и ТИМП-1 представляют ценную информацию для уточнения механизмов патогенеза ХГ С.
2. Показано, что уровень TGF-β1 и ТИМП-1 в сыворотке крови, а также показатели фиброэластометрии имеют значимую связь с основными клинико-лабораторными характеристиками ХГ С, определяющими активность и стадию заболевания.
3. Выявлено, что положительная клинико-лабораторная динамика на фоне эффективного противовирусного лечения ХГ С сопровождается значительным снижением показателей TGF-β1 и ТИМП-1 в сыворотке крови.
4. Полученные результаты свидетельствуют о антифибротических эффектах ИНФ-а и рибавирина, посредством их влияния на уровни TGF-β1 и ТИМП-1.

**Практическая значимость результатов работы**

1. Показано, что оценка сывороточных уровней TGF-β1 и ТИМП-1, а также показатели фиброэластометрии дает новую информацию для характеристики активности и стадии ХГ С.
2. Установлена прямая значимая связь уровней сывороточного TGF-β1 и ТИМП-1 с активностью цитолитических ферментов печени у больных ХГ С.
3. Выявлено, что показатели фиброэластометрии, определяющие стадию фиброза имеют прямую значимую связь с уровнем TGF-β1 и ТИМП-1 у пациентов ХГ С.
4. Динамика сывороточных уровней TGF-β1 и ТИМП-1 служит информативным тестом для контроля эффективности лечения больных ХГ С препаратами ИНФ-а и рибавирина.

**Личное участие автора в получении результатов исследования**

Обследование больных, разработка медицинской документации, ведение индивидуальных карт обследования пациентов, участие в лечении больных и проведении основных лабораторно-инструментальных исследований, статистическая обработка полученных данных, формулировка выводов и практических рекомендаций.

**Внедрение результатов работы в клиническую практику и учебный процесс.** Итоговые материалы диссертационного исследования используются в работе гастроэнтерологического, гепатохирургического отделений ГБУ «Республиканская клиническая больница» МЗ РД, Республиканском центре инфекционных болезней (РД, г.Махачкала), в учебном процессе при чтении лекций и проведении практических занятий по гастроэнтерологии со студентами лечебного факультета, клиническими ординаторами на кафедрах внутренних и инфекционных болезней ГБОУ ВПО «Дагестанская государственная медицинская академия» МЗ РФ, о чем имеются акты внедрения за № 14-614 и № 14-615 от 23 мая 2014 года.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Сывороточные значения TGF-β1, ТИМП-1 у больных ХГ С представляют ценную информацию для оценки патогенеза ХГ С.
2. Повышенные сывороточные значения TGF-β1, ТИМП-1, а также данные фиброэластометрии имеют значимую взаимосвязь с основными клиническими, лабораторными показателями у больных ХГ С, что позволяет использовать их для определения активности и стадии заболевания.
3. Динамика сывороточных показателей TGF-β1, ТИМП-1 позволяет контролировать эффективность комбинированной противовирусной терапии ПегИНФ-α-2а и рибавирином больных ХГ С.

**Апробация работы.** Основные результаты диссертационной работы были доложены на: 16-й Российской конференции «Гепатология сегодня» (Москва, 2011); 12-м международном Евро-Азиатском конгрессе хирургов, гастроэнтерологов, (Баку, 2011); 61-й научной конференции молодых ученых и студентов (Москва, 2013); 18-й Российской конференции «Гепатология сегодня» (Москва, 2013); 13-м международном Евро-Азиатском конгрессе хирургов, гастроэнтерологов, (Баку, 2013); научно-практической конференции, посвященной 50-летию организации Дагестанского научного медицинского общества терапевтов и 90-летию его основателя профессора Х. Э. Гаджиева (Махачкала, 2010); 6-й Республиканской научно-практической конференции «Актуальные вопросы ревматологии, гастроэнтерологии и гепатологии» (Махачкала, 2013).

Апробация работы проведена на межкафедральной научной конференции ГБОУ ВПО «Дагестанская государственная медицинская академия» МЗ РФ 5 апреля 2014 г. (протокол № 7).

**Публикации:** По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, в том числе две работы напечатаны в журналах, рекомендованных ВАК МОН РФ: «Медицинский вестник Северного Кавказа» - 2013. - № 4. - С. 45-47; «Известия Дагестанского государственного педагогического университета. Естественные и точные науки» - 2013. - №3. - С. 60-63.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 133 страницах, состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, клинической характеристики больных ХГ С, двух глав результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 269 источников, из них 72 отечественных и 197 зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 24 таблицами, 13 диаграммами, 1 рисунком, 3 клиническими примерами.

**ГЛАВА I**

**ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

**1.1. Современные представления о фиброзе печени**

***1.2. Эволюция представлений о фиброзе печени***

Представления о фиброзе печени за последние 20 лет эволюционировали от сугубо лабораторного показателя до важного клинического понятия, имеющего большое практическое значение для клинициста-гепатолога. Эта эволюция отражает не только рост представлений о фиброзе на молекулярном уровне, но также его естественное течение и методы выявления при хронических болезнях печени. Прогресс в итоге завершился четким пониманием возможности обратного развития фиброза и даже цирроза печени (ЦП), и реалистическими представлениями о том, что эффективная антифибротическая терапия сможет существенно изменить возможности лечения и прогноз пациентов с болезнями печени.

Фиброгенез - универсальный процесс, основу которого составляет избыточное накопление протеинов внеклеточного матрикса (ВКМ) (коллагена, неколлагеновых гликопротеинов, гликозаминогликанов, протеогликанов, эласти­на) [19,130,146,148,220].

Ключевая роль в процессе печеночного фиброгенеза принадлежит активи­рованным звездчатым клеткам (ЗК) печени, так как они служат основным источником про­теинов ВКМ и тканевых коллагеназ. ЗК расположены в субэндотелиальном пространстве Диссе.

В нормальных условиях субэндотелиальное пространство Диссе содержит компоненты базальной мембраны (БМ) синусоидов. В отли­чие от мембран других сосудов, базальная мембра­на синусоидов имеет низкую плотность, что со­здает эффект «фенестрации» эндотелия. Это позволяет осуществлять обмен веществ между гепатоцитами и кровью синусоидов.

В процессе фиброгенеза накопление фибриллообразующих коллагенов I, III и IV типов в пространстве Диссе приводит к его «капилляризации». Эти изменения являются основой наруше­ния синтетической и метаболической функций клеток печени [19,130,146,148,220].

В здоровой печени основные функции неакти­вированных ЗК заключаются в накоплении запа­сов витамина А. Активация ЗК осуществляется в результате воздействия продуктов клеток-участ­ниц воспаления:

1. Активных форм кислорода (АФК), альдеги­дов, инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF-1), секретируемых поврежденными гепатоцитами;
2. Тромбоцитарного фактора роста (PDGF), фактора роста фибробластов (FGF), транс­формирующего фактора роста β (TGF-β), туморнекротизирующего фактора α (TNF-α), интерлейкина-1 (ИЛ-1), АФК, продуцируемых клетками Купфера/моноцитами;
3. PDGF, FGF, IL-1, TGF-β1, оксида азота, эндотелина-1 (ЕТ-1), АФК, продуцируемых клетками эндотелия синусоидов;
4. TNF-α, интерферона-γ (IFN-γ), секретируемых Т-лимфоцитами;
5. PDGF, TGF-α и TGF-β, секретируемых тромбоцитами [30,31,34,50,90,98,122,146].

Начальные этапы активации ЗК сопровожда­ются некоторыми фенотипическими изменения­ми: появлением рецепторов ростовых факторов (PDGF, TGF-β, FGF) на поверхности ЗК, актив­ной пролиферацией, способностью к сократимос­ти (α-SMA), исчезновением запасов витамина А, продукцией компонентов ВКМ, преимущественно коллагена I типа, в меньшей степени - коллаге­нов III и IV типов [146,148,220].

Дальнейшая активация ЗК и их трансформа­ция в миофибробластоподобные клетки характе­ризуется высоким пролиферативным потенциа­лом и сократимостью. На этой стадии ЗК активи­руются по механизму аутокринной стимуляции с участием ИЛ-10, TGF-β, ET-1, PDGF. Центральное собы­тие активации ЗК - избыточная продукция ком­понентов ВКМ [5,30,32,46,81,86,94].

Другая важная функция ЗК - регуляция не­которых этапов каскада воспалительных реакций:

1. «Рекрутирование» и активация лейкоцитов - MCP-1, MIP-2, IP-10, цинк, комплемент, остеопонтин;
2. Продукция протеинов острой фазы - ИЛ-6;
3. Адгезия лейкоцитов - ICAM-1, VCAM-1;
4. «Рекрутирование» и активация тучных клеток;
5. Созревание лейко­цитов - моноцитарный колониестимулирующий фактор (M-CSF);
6. Угнетение воспале­ния - ИЛ-10 [30,31,34,50,98,90,122,141].

По современным представлениям, развитие фиброза печени нельзя объяснить только избыточной продукцией компонентов ВКМ, скорее оно связано с нарушением равновесия процессов образования и деградации компонентов внеклеточного матрикса. Непосредственно ЗК вырабатывают активные вещества разнонаправленного действия, обладающие способностью как стимулировать рассасывание ВКМ, так и подавлять этот процесс. Основными ферментами, вызывающими деградацию межклеточного вещества, являются матриксные металлопротеиназы (ММП). Главный активатор ММП - белок плазмин. Тканевой ингибитор мат­риксных металлопротеиназ (ТИМП) подавляет активность ММП.

Ключевыми фиброгенными клетками, секретирующими ТИМП и синтезирующими коллаген, являются ЗК. При хроническом повреждении печеночной ткани замедляются процессы разрушения экстрацеллюлярного матрикса, что связано с нарушенным балансом между уровнем экспрессии металлопротеиназ и их ТИМП [142,150].

Кроме того, ЗК способны тормозить активацию ММП путем подавления актив­ности плазмина [145,146,162,167,190,219,218].

Равновесие между процессами син­теза и разрушения компонентов ВКМ достигает­ся с помощью тканевых коллагеназ и апоптоза клеток, в избытке продуцирующих компоненты ВКМ [39,248].

В условиях длительного повреждения наруша­ются процессы деградации избытка ВКМ. Кроме того, в результате одновременно протекающих процессов повреждения, репарации и регенера­ции наступают глубокие изменения архитектони­ки органа, которые мо­гут способствовать раз­витию неопластических процессов [83,243].

Таким образом, эволюция фиб­роза при вирусных гепа­титах может быть представлена следующим об­разом: портальный гепатит приводит к формиро­ванию фиброза портальных трактов (портальный фиброз) и капилляризации синусоидов. Затем фиброз распространяется по направлению к центральной печеночной вене и соседним пор­тальным трактам с дальнейшим образованием портопортальных и портоцентральных септ [39,73].

***1.3. Патогенетические особенности фиброгенеза при хронических заболеваниях печени***

Фиброз печени (ФП) - результат длительного ее повреждения, сопровождаемого диспозицией белков ВКМ, итог прогрессирования хронических заболеваний печени (ХЗП). Нарушение печеночной архитектоники с формированием фиброзных септ, узлов регенерации приводит, в конечном счете, к ЦП и нарушению печеночной функции [19,130,146,148,220].

Данное определение подразумевает, что ЦП - явление необратимое. Однако имеется достаточно доказательств обратимости этого процесса. Основными причинами ФП у лиц, проживающих в индустриально развитых странах, являются хронический гепатит С (ХГ С), хронический гепатит В (ХГ В), злоупотребление алкоголем и неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) [214].

На ранних стадиях ФП практически никаких явных клинических проявлений этого патологического процесса не отмечается и лишь морфологическое исследование биоптата позволяет обнаружить признаки начинающихся структурных изменений, выражающихся в чрезмерном накоплении ВКМ. Молекулярный состав измененной соединительной ткани при ЦП примерно одинаков, независимо от этиологии процесса. Он считается результатом чрезмерного накопления ВКМ. Естественное развитие хронического повреждения печени – прогрессирование фиброза, в конечном итоге приводящее к циррозу и гепатоцеллюлярной карциноме (ГЦК). Гепатоциты являются мишенями для большинства повреждающих агентов, включающих вирусы гепатита, метаболиты алкоголя, токсичные желчные кислоты и др. Повреждение гепатоцитов сопровождается высвобождением радикалов кислорода, фиброгенных медиаторов и активацией воспалительных клеток [146,215].

Среди факторов необратимого повреждения тка­ни печени выделяют местные и системные механиз­мы. В печени определенную роль играют следую­щие процессы:

* массовая гибель (некроз) гепатоцитов, которая нарушает, вызывая стрессорную (повреждающую) активацию синусоидальных клеток (СК), и прежде всего клеток Ито [205]. В результате клетки Ито утрачивают пластические и регуляторные функции стволовых клеток и превращаются в зрелые фибробласты, которые не способны регулировать межклеточные взаимодействия и структуру ВКМ, вызывая дисбаланс функций клеток печени (потеря микроворсинок на гепатоцитах, капилляризация синусоидов, нарушение растормаживания митотических потенций гепатоцитов);
* преобладание процессов синтеза фибрил­лярных матриксных коллагенов и относительная недостаточность синтеза (активности) матриксных протеиназ (коллагеназ) ведет к формированию фиб­розной ткани, которое начинается в пространстве Диссе. В результате имеет место отложение колла­гена 1, 3, 5-го типов и фибронектина, которые созда­ют препятствия для нормального обмена веществ между кровью синусоидов, гепатоцитов и СК [66].
* развитие дискоординации биорегуляторных ритмов активности гепатоцитов и СК вследствие снижения массы гепатоцитов до критического уровня. В результате резко возрастает функциональная нагрузка на эти клетки и, соответственно, снижается и десинхронизируется их митотическая активность, а также возрастает апоптоз сохранившихся гепатоцитов [35,106].

***1.3.1. Молекулярный состав ВКМ***

Многочисленные повреждающие агенты, являясь триггерами фиброгенеза, запускают процесс образования фибриллярных структур или чрезмерного синтеза и накопления ВКМ. Молекулярный состав измененной соединительной ткани при ФП примерно одинаков, независимо от этиологии процесса [146].

Длительная персистенция активных клеток Ито приводит к аккумуляции протеинов ВКМ и прогрессированию фиброза. Молекулы ВКМ объединяются в большие молекулярные образования: коллагены, неколлагеновые гликопротеиды, глюкозаминогликаны, протеогликаны и эластин. Накопление коллагена – важный этап развития ФП, так как он является основным компонентом, формирующим механический каркас органа [5,31,32,46,81,86,94].

Из 20 различных типов коллагена, имеющих определенную функцию и специфическую локализацию, более 10 найдено в печени. За формирование фибрилл отвечают коллагены I, III и IV типов, формирующие базальную мембрану клеток. После повреждения печени большое значение приобретают ранние изменения матрикса в пространстве Диссе, который из базального мембраноподобного матрикса начинает преобразовываться в интерстициальный матрикс, состоящий преимущественно из коллагена III и IV типов, входящего в состав фибрилл и фибронектина [146].

Подобное изменение состава ВКМ в конечном итоге может напрямую стимулировать фиброгенез. Коллаген IV типа, фибриноген и урокиназный тип активатора плазминогена активируют ЗК путем стимуляции латентных цитокинов, таких как TGF-β1.

Фибриллярные коллагены могут связывать и стимулировать ЗК посредством дискоидинового домена рецептора DDR2 и интегринов. Более того, измененный ВКМ может служить «резервуаром» для факторов роста (ФР) и ММП [215].

В результате избыточного синтеза компонентов ВКМ синусоиды превращаются в капилляры, исчезают фенестры эндотелия. В итоге нарушается обмен веществ между гепатоцитами и кровью. Стенозирование синусоидов повышает сосудистое сопротивление в печени и способствует формированию портальной гипертензии (ПГ) [27,30,44,48,71].

Прогрессирование фиброза нарушает архитектонику печени и обусловливает развитие ЦП и ПГ.

К тому же длительная стимуляция эпителиальной пролиферации в аномальной среде ВКМ (регенеративные узелки) предрасполагает к развитию ГЦК [146].

В процессе хронического воспаления увеличивается количество рецепторов к цитокинам, стимулирующих пролиферацию и фиброгенез. Активированные ЗК секретируют воспалительные хемокины, экспрессируют адгезивные молекулы и модулируют активацию лимфоцитов, особенно Т-хелперных клеток. Таким образом, создается замкнутый круг из иммунных клеток и клеток Ито, которые взаимно активируют друг друга. Радикалы кислорода и протеазы усиливают клеточное повреждение [215].

Любое повреждение гепатоцитов сопровождается высвобождением свободных радикалов и фиброгенных медиаторов, в том числе и цитокинов, вовлечением лейкоцитов в воспалительный процесс [60].

Кроме того, фиброгенную активность миофибробластов печени стимулирует апоптоз поврежденных гепатоцитов [105]. Воспалительные клетки (лимфоциты, нормальные киллеры, полиморфно-ядерные клетки) активируют клетки Ито, синтезирующие коллаген. Они являются ключевыми в фиброгенезе печени [215].

***1.3.2.******Регуляторные механизмы фиброза печени***

Процесс регуляции ФП изучен недостаточно. Большинство результатов получено при исследовании на культуре ЗК. В то же время понимание их роли in vivo осуществляется при изучении экспериментального фиброгенеза на лабораторных линиях мышей [85].

**Гены, регулирующие фиброгенез.** Полиморфизм генов объясняет разное течение ФП при хронических заболеваниях печени. Однако результаты исследований данной проблемы крайне противоречивы и требуют дальнейшего изучения [85]. Многочисленные исследования, посвященные проблеме ФП, позволили определить ключевые гены, инициирующие фиброгенез [85,146].

Гены, регулирующие синтез воспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10, IFN-γ, остеопонтин), определяют развитие ФП в ответ на воспаление. Гены, кодирующие никотинамидадениндинуклеотидфосфат-Н-оксидазу (НАДФ-Н-оксидаза), регулируют как воспаление, так и депозицию ВКМ.

Данные ферментные системы сохраняют постоянную активность, продуцируя относительно низкие уровни свободнорадикальных веществ по отношению к базальным уровням и генерируют более высокие уровни перекисного окисления липидов (ПОЛ) в ответ на действие цитокинов [85]. Регуляция синтеза фиброгенных факторов (TGF, FGF и др.), вазоактивных субстанций (ангиотензин-2, норэпинефрин) и адипокинов (лептин и адипонектин) способствует образованию компонентов ВКМ [91]. Гены апоптоза клеток печени и (или) некроза (Bcl-xL, Fas-лиганды) влияют на степень повреждения гепатоцитов и последующий фиброзный ответ [91].

Кроме того, открыты специфические гены для каждого заболевания. Вариабельность генов, кодирующих воспалительные медиаторы (TNF-α, ИЛ-1β, ИЛ-10, цитотоксичный Т-лимфоцитарный антиген-4, рецептор CD14, супероксиддисмутаза), может способствовать прогрессированию алкогольной болезни печени [91], тогда как роль в фиброгенезе печени полиморфизма генов цитохрома Р-450, алкоголь - и альдегиддегидрогеназы, определяющих индивидуальную чувствительность к алкоголю, сомнительна [85].

Различные варианты ХГ С отвечают за персистенцию, противовирусный ответ, фиброгенные агонисты (ангиотензиноген, TGF-β1), способствуют прогрессированию фиброза [85]. Возможно, что ангиотензиноген и TGF-β1 могут быть ассоциированы со степенью выраженности стеатоза [85].

**Сигнальные внутриклеточные пути, инициирующие фиброгенез.** Исследования внутриклеточных путей, регулирующих фиброгенез, сводятся, к сожалению, к изучению культуры ЗК и их роли in vivo на линии мышей. Основные митогенактивирующие протеинкиназы и PRAR-сигнальные пути (ядерные рецепторы для белков семейства пероксисомных пролифераторактивируемых рецепторов) регулируют основные фиброгенные свойства ЗК [85].

Матрикс-регулирующие киназы стимулируют воспаление, инициируют пролиферацию и миграцию ЗК, тогда как c-Jun N-концевая киназа регулирует также апоптоз гепатоцитов и секрецию провоспалительных цитокинов в культуре ЗК [119]. TGF-β1 активирует SMAD-сигнальные пути (серин-треонинкиназы, активирующие цитоплазматические медиаторы), тем самым стимулируя фиброз печени [215].

Ядерный фактор NF-каппа В (фактор, регулирующий транскрипцию, модулирует многие медиаторы) может ингибировать активацию ФП. Роль других внутриклеточных сигнальных путей при ФП (Тoll-подобные рецепторы-регуляторы иммунного ответа, антионкоген, β - катепсин-протеиназа, участвующая в апоптозе клеток) в настоящее время активно изучается [85].

**Цитокины, регулирующие фиброгенез.** Как неоднократно отмечалось в литературе, в процессе регуляции фиброгенеза огромную роль играют различные цитокины. Их продукция в норме отсутствует или минимальна. При активации клеток и появлении физиологических и патологических стимулов продукция этих аутокринных, паракринных и эндокринных молекул возрастает, тем самым регулируя клеточный ответ на внешние стимулы [85].

Каскадный характер действия цитокинов объясняется индукцией выработки одним цитокином другого, а также синергизмом (например, IFN-γ и TNF-α) и антагонизмом (например, ИЛ-4 с IFN-γ) во взаимодействии. Именно разбалансированность цитокиновой регуляции и нарушение равновесия альтернативных по биологической активности пулов молекул способствует развитию патологии [25,51,60].

Данные исследователей о патогенезе гепатитов и ФП свидетельствуют о том, что повреждение печени практически всегда сопровождается дисфункцией иммунной системы. Основой развития иммунокомплексных реакций являются нарушения цитокинового статуса, поскольку именно цитокины непосредственно участвуют в развитии воспаления, иммунного ответа и регенерации печени [25,51,65,70].

Цитокины участвуют в регуляции развития воспалительной реакции печеночной ткани, апоптоза и некроза клеток печени, развитии холестаза и фиброза, но данные цитокины одновременно являются медиаторами регенерации поврежденной ткани.

***Трансформирующий фактор роста β (TGF-β)*** является ключевым звеном в развитии фиброгенеза, играя важную роль в аутоактивации ЗК, благоприятствуя их переходу в миофибробластподобные клетки. Кроме того, он стимулирует синтез белков ВКМ, ингибирует их деградацию.

Стратегия, нацеленная на разрушение синтеза TGF-β1 и регуляторных путей, значительно уменьшает развитие ФП на экспериментальных моделях [85].

Установлено, что на первом этапе (этапе инициации), покоящаяся ЗК под действием перечисленных выше продуктов макрофагов и эндотелия утрачивает депо ретиноидов и начинает секретировать TGF-β1 - фактор, который играет ключевую роль в развитии последующей аутоактивации ЗК. Под его воздействием ЗК не только продолжают «активировать сами себя», но и приобретают способность мигрировать в участки воспаления [1,27,114,135,230].

Следующий этап – закрепления, сопровождается превращением ЗК в миофибробласты - клетки вытянутой формы, содержащие фибриллы альфа-актина (что придает им некоторую способность к сокращению). Эти клетки продолжают секретировать TGF-β1, а также способны к выработке ВКМ печени. Миофибробласты приобре­тают способность к активному делению в участках воспаления [81,86,139,146,189,220].

TGF-β1 выступает важнейшим фиброгенным фактором при непре­кращающейся активации клеток Ито, уровень которого в крови повышается как при экс­периментальном фиброзе, так и при развитии фиб­роза печени у человека [45,93,204,234,235,243]. Имеется множество ис­точников избыточного образования TGF-β1, среди которых наиболее важным считают аутокринную экспрессию клеток Ито [155,234,235,243,253], которая наступает за счет транскрипционной стимуляции TGF-β1, активации латентного TGF-β1, возросшей экспрессии рецеп­торов к TGF-β1 и стимуляции сигнальных компо­нентов TGF-β1 [262].

Имеется прямая корре­ляция между сывороточным уровнем TGF-β и ин­дексом гистологической активности [212] и степенью ФП [182]. Уровень TGF-β<75 нг/мл свидетельствует о стабильном течении заболевания [96,182].

Что касается индивидуальных факторов, которые могут влиять на ско­рость прогрессирования ФП, помимо влияния возраста и пола, установлено значение особенностей строения молекулы TGF-β1 и его рецепторов у различ­ных людей. Как было отмечено выше, данный цитокин, помимо корреляции с ИГА, поддерживает ЗК в состоянии активации и стимулирует продукцию соединитель­ной ткани [193,216,230,238].

Под воздействием TGF-β1 резко усиливается образование матрикса активированными ЗК печени. При фиброзе печени ЗК являются наиболее важным источником TGF-β1, но этот цитокин секретируется также клетками Купфера и тромбоцитами. Из трех типов TGF-β наиболее известна β1- изоформа, секретируемая вместе с нековалентно связанным латентно ассоциированным белком. Активация указанного комплекса может быть связана с несколькими соединениями, в том числе с протеолитической активностью, такими, как ММП и активатор тканевого плазминогена [145,162,167,190, 218,219].

Из трех главных типов рецепторов TGF-β два – TGF-β RI и RII - присутствуют в неактивированных и активированных ЗК и отличаются наличием миофибробластоподобного фенотипа. Активация ЗК сопровождается повышением чувствительности к воздействию TGF-β и, в свою очередь, усиливает синтез ВКМ. Большой прогресс, достигнутый в понимании внутриклеточной сигнальной системы, внутриклеточных эффекторов рецепторов TGF-β, позволяет изучать их значение и для ЗК.

Существует мнение и о том, что регенерация гепатоцитов при ингибировании экспрессии ТGF-β1 происходит на фоне антагонистического действия фактора роста гепатоцитов (HGF) – гликопротеина, являющегося сильным митогеном для гепатоцитов и участвующего в регенерации печени. Предполагается, что противофиброгенный эффект HGF основывается на повышении коллагеназной активности в печени, которая инициирует деградацию компонентов ВКМ и стимулирует экспрессию и активность протеаз, вовлеченных в разрушение ВКМ, таких как ММП, ТИМП-1, активатор плазминогена урокиназного типа [215].

Не менее важная роль в процессах фиброгенеза печени принадлежит коли­чественным и качественным нарушениям продук­ции ЗК металлопротеиназ (ММП) и их ингибито­ров (ТИМП), в результате чего ВКМ превращается в матрикс, богатый интерстициальным (фибриллярным) кол­лагеном, нарушающим процессы восстановитель­ной регенерации всех клеток ткани печени [145,162,167,190,218,219].

**1.3.3. Методы диагностики фиброза печени**

Почему необходима клиническая оценка фиброза у больных хрониче­скими диффузными заболеваниями печени?

Весомыми аргументами в пользу изучения ФП у больных хроническим вирусным гепатитом (ХВГ) служат следующие обстоятельства:

1. Выраженный фиброз влияет на эффективность курса лечения, и его обнаружение может потребовать продления сроков терапии и увеличения доз препаратов [3,7,13,18,33,44].
2. Определение стадии и риска прогрессирования фиброза у пациен­тов с ХВГ, у которых на фоне лечения развиваются нежелательные эффекты терапии, вносит весомый вклад в определение дальнейшей тактики терапии и привязанности пациента к назначенному лечению [49,52,59,63,67].
3. Наличие ФП на фоне стеатогепатита у больных неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ) позволяет обосновать назначение лекарственной терапии [67,87].
4. Возможность обратного развития фиброза на фоне лечения служит основным критерием эффективности лекарственной терапии и активно изу­чается в ходе клинических испытаний новых препаратов [79,225,267].
5. Пациенты с выраженным ФП входят в группу высокого риска раз­вития осложнений цирроза и рака печени [85,192,264].

Фиброзные изменения возникают при большинстве ХЗП (*табл. 1*). При тяжелом, не поддающемся лечению течении, фиброз может прогрес­сировать и перейти в цирроз.

*Таблица 1*. *Хронические заболевания печени, сопровождающиеся развитием фиброза.*

|  |
| --- |
| Хронические вирусные гепатиты (В, С, B+D) |
| Аутоиммунный гепатит |
| Алкогольная болезнь печени (жировая дистрофия, алкогольный гепатит) |
| Первичный билиарный цирроз |
| Первичный склерозирующий холангит |
| Наследственный гемохроматоз |
| Болезнь Вильсона |
| Дефицит а-1-антитрипсина |
| Врожденный фиброз печени |
| Лекарственные поражения печени |

"Золотым стандартом" оценки выраженности ФП остается биопсия печени [73,58]. Однако в среднем лишь 5 % пациентам с риском развития фиброза проводят биопсию печени [224]. Гистологическое исследование в ряде случаев позволяет уточнить при­чину заболевания печени, а также оценить степень активности. Наиболее распространенными и обще­принятыми являются полуколичественные способы оценки выраженности ФП по шкале METAVIR или K.G. Ishak и соавт. [124,173]. Для морфометрического анализа могут использоваться специфические окраски, направленные на выявление компонентов ВКМ. К основным недостаткам биопсии печени относится инвазивный характер ис­следования, при котором боль наблюдается в 25% случаев, а у 0,5% больных — более серьезные ослож­нения [58,250]. Их развитие нередко связано с опытом врача, выполняющего биопсию. Возможны ошибки при интерпретации гистологической картины различными исследовате­лями или при повторном исследовании тем же спе­циалистом [228]. А также имеется масса несовершенств в имеющихся системах полуколичественной оценки стадии фиброза. Отмечается значительное различие показателей в различных образцах (до 40%), высокая внутри - и межпатологическая вариабельность [4,54,67,153,173].

Существует ряд противопоказаний к проведению биопсии печени: коагулопатии; повышенное давление в желчных путях; аллергические реакции на обезболивающие препараты; негативный настрой и страх пациента; нежелательность наркоза для бывших потребителей психоактивных веществ; отягощённость другими заболеваниями, особенно в пожилом возрасте [16].

Кроме того, высокая стоимость и нежелание больных подвергаться инвазивным процедурам обусловливают необходимость разработки неинвазивных методов диагностики фиброза печени [100,113].

Учитывая необходимость в простом неинвазивном и воспроизводимом методе оценки ФП, современный этап развития клинической гепатологии характеризуется постепенным отходом от традиционно принятого, служившего в течение веков основным путем накопления врачебных знаний, морфологического метода исследования. Этому способствуют три обстоятельства: бурное развитие методов визуализации, позволяющих получить детальную картину структуры органа; высокая стоимость биопсии и морфологического исследования ткани печени в западных странах; пассивная позиция гепатологов, не владеющих методикой забора ткани печени и не умеющих трактовать результаты морфологического исследования. Основной аргумент – инвазивность биопсии – часто служит поводом для необоснованного отказа от проведения морфологического исследования, результаты которого в сложных клинических ситуациях становятся определяющими в подтверждении диагноза и определении стратегии терапии хронического заболевания печени. Аналогичный подход в европейских странах, в частности во Франции, послужил стимулом для поиска и разработки неинвазивных методов (эластометрия – изучение эластических свойств ткани печени; сывороточные тесты – определение компонентов экстрацеллюлярного матрикса, принимающих участие в процессе фиброгенеза, в сыворотке крови), диагностики фиброза печени у больных хроническими гепатитами, значительно сузив при этом спектр показаний к биопсии печени [98,109,110,112,115,133,156,174,180,190,223,

226].

Предложено несколько способов оценки выра­женности ФП на основании рутинных лабораторных тестов, включающих показатели активности аминотрансфераз и белков острой фазы воспаления в сыворотке крови, количества тромбоцитов, протромбинового времени [138,168].

Содержание в сыворотке белков, непосредственно связанных с фиброгенезом в печени, таких как N-концевой пропептид коллаге­на III типа, а также гиалуроновую кислоту, тканевой ингибитор металлопротеиназ 1 типа также пытаются использовать в качестве суррогатных маркеров ФП [136]. Эти подходы к оценке ФП обладают высокой специфичностью при крайних степенях выраженнос­ти фиброза: ЦП или минимальных изменений в печени, но недостаточно специфичны для разграни­чения промежуточных вариантов.

Специфичные для фиброза белки могут отражать фиброгенез в других органах (например, фиброз поджелудочной железы у больных с хронической алкогольной интоксикаци­ей). В стадии разработки находятся методы неинвазивной диагностики фиброза, основанные на протеомике и гликомике сывороточных белков, с использованием анализаторов последовательнос­тей/фрагментов ДНК, способных генерировать про­фили N-протеингликанов сыворотки крови [104].

Наконец, ФП пытаются оценить при помощи лучевых, т.е. визуальных методов диагностики. Ультразвуковое иссле­дование, компьютерная и магнитно-резонансная томографии позволяют выявлять изменения парен­химы печени, обусловленные значительным и тяже­лым фиброзом. Ультразвуковое исследование позволяет выявлять продвинутые стадии ЦП на ос­новании обнаружения неровного контура печени, признаков портальной гипертензии [68,165]. Оценка данных ультразвукового исследования в значительной степе­ни зависят от профессионализма врача, проводящего данную манипуля­цию. Кроме того, повышенная эхогенность печени может наблюдаться не только при выраженном фиб­розе, но и при значительном стеатозе печени.

Нако­нец, обнадеживает внедрение в клиническую практику кратковременной эластографии печени ("ФиброСкан") [268].

В то же время необходимо помнить, что клиническое применение неинвазивной диагностики фиброза (эластометрии и сывороточных тестов) стало возможным после сравнительного анализа получаемых данных с результатами морфологического исследования ткани печени (88,152).

***Фиброэластометрия***

Вышеперечисленные обстоятельства объясняли назревшую необходимость в разработке и внедрении в практику точных, информативных и неинвазивных методов диагностики фиброза печени на любой стадии процесса. Требовались методы, которые позволили бы проводить многократные исследования для оценки динамики патологического процесса, в том числе и на фоне терапии, а также могли бы использоваться в качестве скрининг - тестов у пациентов из групп риска.

Одним из таких высокотехнологичных неинвазивных методов оценки степени фиброза печени является фиброэластометрия - определение фиброза с помощью упругих волн. Исследование проводится на аппарате «Фиброскан» (Echosens, Франция; рис 1). Фиброскан был изобретен и сконструирован во Франции в начале 2000-х. В серийное производство поступил в 2003 году, а в России прошел государственную регистрацию в конце 2006 года. Теоретической предпосылкой для разработки эластометрии послужил клинический опыт рас­шифровки уплотнения печени при пальпации в пользу выраженного ФП или ЦП. Выделяют 4 этапа в совершенствовании эластографической техники:

1 - стати­ческая эластография;

2 - динамическая эластография;

3 - дистанционная эластография;

4 - кратковременная эластография (транзиторная), наиболее приемлемая для оценки выраженности ФП [10,11,107,109,116,192,206,267].

Рабочая часть аппарата представлена ультразвуковым преобразовательным датчиком, в который установлен источник колебаний средней амплитуды и низкой частоты. Генерируемые им колебания передаются на исследуемые подлежащие ткани печени и создают упругие волны, подвергающие модуляции отраженный ультразвук. Скорость распространения упругих волн определяется эластичностью печеночной ткани, которая в свою очередь зависит от содержания в печени фиброзной ткани. Полученный результат выражается в килопаскалях(кПа) и позволяет четко распределять больных по стадиям заболевания от F0 (отсутствие фиброза) до F4 (цирроз печени) по шкале METAVIR [140].



***Рис. 1 Аппарат «Фиброскан»***

Многочисленные исследования подтвердили достаточно высокую степень соответствия стадии фиброза, полученную в результате фиброэластометрии и данным системы полуколичественной оценки фиброза по METAVIR на основании морфологических изменений в биоптатах **(табл.2)** *при максимальной диагностической точности эластометрии при стадиях F3-F4* [14,28,37,84,200,239]. Кроме того, показана отличная прогностическая ценность фиброэластометрии, высокая чувствительность и специфичность метода [43].

***Таблица 2.*** *Система полуколичественной оценки фиброза печени по METAVIR.*

|  |  |
| --- | --- |
| Баллы | METAVIR |
| 0 | Фиброз отсутствует |
| 1 | Звездчатое расширение портальных трактов без образования септ |
| 2 | Расширение портальных трактов с единичными портопортальными септами |
| 3 | Многочисленные портоцентральные септы без цирроза |
| 4 | Цирроз |

Суммарный объем подвергающейся исследованию печеночной ткани составляет в среднем 6 см3, что многократно превышает таковой при пункционной биопсии и позволяет судить о состоянии печени в целом, а не отдельного её фрагмента [200,239].

Преимущества метода заключаются в следующем: метод безопасен; нетравматичен; используется в педиатрии; проводится без предварительного обследования и подготовки пациента; не требует госпитализации; экономически доступнее, чем процедура биопсии; позволяет осуществлять диагностику цирроза на ранних стадиях; не требует наличия в медицинском учреждении опытного морфолога; может повторяться пациенту неоднократно, что актуально при диспансерном наблюдении и контроле эффективности лечения.

Процедура безболезненна и занимает несколько минут. Результаты отображаются на мониторе и заносятся в электронную базу данных пациентов. Специальной подготовки к процедуре не требуется. Исследование производится в положении пациента лежа на спине с максимальным отведением правой руки. Никаких неприятных ощущений исследование не вызывает.

В Дагестане впервые на Северном Кавказе с февраля 2010 г. на базе медицинского центра «Гепар» г. Махачкала успешно внедрена в практику фиброэластометрия с использованием аппарата «Фиброскан».

Проведенные исследования подтверждают данные зарубежных авторов о диагностической точности эластометрии на разных стадиях фиброза печени, которые указывают на максимальную диагностическую точность аппарата «FibroScan» при фиброзе печени в стадии F3–F4 [88,152]. Данный факт позволяет использовать результаты эластометрии для принятия решения о начале терапии и прогнозирования ответа на неё, так как известно, что при выраженном фиброзе (стадия F4) результаты противовирусного лечения хуже [40,41]. Низкая чувствительность (66%) эластометрии при фиброзе в стадии F0–F1 обусловливает необходимость выполнения биопсии печени или использования других тестов с целью уточнения стадии фиброза у этих пациентов. Высокая специфичность (83%) эластометрии на ранних стадиях фиброза позволяет применять её у пациентов с ХГ С с нормальным уровнем активности трансаминаз, при ведении которых можно ограничиться динамическим наблюдением без назначения противовирусной терапии [88,152].

Во время проведения эластометрии с использованием аппарата «Фиброскан» отмечены два важных момента, ограничивающих его использование:

1) значительное количество неинформативных исследований у пациентов с ИМТ ≥28 кг/м2, в связи с чем требуется поиск путей технического совершенствования метода для повышения его эффективности у пациентов с избытком массы тела;

2) с помощью этого метода нельзя определить признаки активности гепатита, что не позволяет применять его самостоятельно для оценки темпов прогрессирования фиброза.

Так, у пациентов с фиброзом в стадии F2 и ИГА 5 баллов и фиброзом в стадии F2 и ИГА 12 баллов, у которых, согласно результатам эластометрии, одинаковая степень фиброза, отмечается разный риск его прогрессирования (темпы прогрессирования зависят от некротически-воспалительной активности гепатита) [14,38,39]. Таким образом, использование эластометрии, с целью оценки динамики фиброзных изменений на фоне лечения рекомендовано после выполнения биопсии печени до начала курса терапии или в комплексе с другими неинвазивными тестами.

**1.4. Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы:**

**строение, регуляция, роль в развитии патологических состояний**

***1.4.1. Матриксные металлопротеиназы***

Впервые MMП были обнаружены у позвоночных в 1962 г., к настоящему времени описано около 30 MMП, из них 23 обнаружены в тканях человека [95,210,252]. Установлена важная роль ММП в разных процессах жизнедеятельности: в эмбриональном развитии, морфогенезе органов, ангиогенезе, апоптозе, росте нервной ткани, ремоделировании тканей, заживлении ран, в том числе после инфаркта миокарда и инсульта и др. [175,194,210]. ММП способны модулировать активность факторов роста, цитокинов или их рецепторов. Экспрессия ММП коррелирует с деструктивными изменениями в экстрацеллюлярном матриксе (ЭМ) и с туморогенным фенотипом клеток, а также зависит от вида опухоли и ткани. ММП могут участвовать в процессе канцерогенеза, воздействуя на разные пути передачи сигнала в клетке, основные компоненты ЭМ, на межклеточные взаимодействия и т.д. [57].

**Классификация ММП [1]:**

1. ММП секреторного типа (классические, свободные, растворимые):

* коллагеназы (ММП-1, ММП-8, ММП-13, ММП-18);
* желатиназы (ММП-2, ММП-9);
* стромелизины (ММП-3, ММП-10, ММП-11, ММП-19);
* матрилизины (ММП-7);

1. ММП, связанные с клеточными мембранами (мембранный тип МТ-ММП-14, -15, -16, -17);
2. ММП неклассифицированные, не относящиеся к известным подсемействам (ММП-12, -19, -20, -21, 28).

ММП относятся к «индуцируемым» ферментам, транскрипция которых зависит от целого ряда факторов (цитокины, факторы роста и некроза опухолей, химические агенты и др.). Исключение составляет желатиназа А (ММП-2), экспрессия которой происходит по конститутивному пути. Эти различия в регуляции транскрипции объясняются, в частности, различиями в строении промоторов ММП. ММП секретируются клетками в виде неактивных ферментов – про - MMП или зимогенов. Плазмин и активатор плазминогена урокиназного типа, которые инициируют отщепление пропептида, являются основными физиологическими активаторами ММП, причем в этом процессе участвуют некоторые ММП, находящиеся в активной форме (например, про-ММП-1 активируется MMП-7, MMП-7 может активировать про-MMП-9 до 50% активности [57,183]. Кроме того, ММП могут активироваться эластазой лейкоцитов (на 50%) или трипсином, который полностью активирует про-ММП-7 [222].

В физиологических условиях есть 2 основных пути регуляции активности ферментов: активация зимогенов и взаимодействие со специфическими ТИМП, которые стехиометрически избирательно связываются с про-ММП и активными ММП. [55,118,164,263]. В настоящее время хорошо изучены четыре ТИМП. Формирование фиброза происходит вследствие нарушения баланса между процессами синтеза и распада ЭМ в сторону преобладания процессов образования ВКМ, что может быть вызвано разными факторами – как снижением активности ММП, разрушающих ЭМ, так и увеличением активности или количества их ингибиторов – ТИМП.

Среди пациентов с хроническим вирусным гепатитом В уровни ТИМП-1, соотношение ТИМП-1/MMП-1, mRNA экспрессия ТИМП-1 (ТИМП-1mRNA) и ТИМП-1mRNA/MMП-1mRNA были значительно выше, чем у здоровых пациентов [266]. Отмечена положительная корреляция показателей ТИМП-1, ТИМП-1/ММП-1 и ТИМП-1mRNA и отрицательная – уровня MMП-1 с выраженностью фиброза и степенью воспаления печени [266].

Активность данных ферментов контролируется циклооксигеназой II типа, экспрессия которой высвобождает в гепатоцитах ММП-2 и ММП-9. O Nunez и соавт. [2004] показали, что уровень ММП-2 и ММП-9 повышался при гепатите С и коррелировал с индексом фиброза.

Все металлопротеиназы обладают относительной субстратной специфичностью: представители подсемейства коллагеназ, главным образом, ответственны за деградацию коллагена I, II и III типа, желатиназы и стромелизины, расщепляют коллаген IV, V типов, а также эластин, фибронектин, ламинин и желатин. Субстратами для ММП также могут быть нематричные компоненты: плазминоген, фибрин, фибронектин, казеин, кор-протеин, предшественники цитокинов. ММП-8, -12, -13, -14 инактивируют фактор свертывания XII, а MMП-1, -2, -3, -9 – интерлейкин ИЛ-1β [163]. ММП-9, или желатиназа В, имеет высокое сродство к денатурированному коллагену (желатину), но также способна расщеплять нативный коллаген VI, V и XI типов, эластин, а также ИЛ-8, активирующий пептид соединительной ткани III, пластиночный фактор-4, субстанцию Р, амилоидный пептид β. В зависимости от места расщепления этих молекул ММП-9 может понижать или повышать их биологическую активность [256].

Экспрессия ММП сходна с экспрессией белков острой фазы и регулируется противовоспалительными цитокинами, такими как ФНО-α, ФНО-γ и ИЛ-1β [147,201], бактериальными липополисахаридами [260]. Регуляция активности ферментов на посттрансляционном уровне осуществляется активацией зимогенов или взаимодействием с ТИМП [259]. Предшественники ММП активируются в межклеточной среде преимущественно плазмином и другими протеиназами, в том числе и ММП, а также тиолмодифицирующими агентами (4-аминофенилмеркуриевый ацетат, HgCl2 и N-этималеимид). Низкая pH, гипертермия и ПОЛ также могут активировать металлопротеиназы [55].

Основная биологическая функция ММП заключается в удалении компонентов ВКМ. Металлопротеиназы регулируют действие ростовых факторов: сосудистого эндотелиального фактора роста, рецептора фактора роста фибробластов, эпителиального фактора роста и инсулиноподобного фактора роста [248].

Деградация межклеточного матрикса (ММ) необходима для протекания многих физиологических процессов: эмбриогенеза, морфогенеза, ангиогенеза, инволюции ткани, миграции, адгезии и др. Нарушение регулируемой деградации ММ может приводить к развитию многих патологических состояний. Установлена корреляция между изменением баланса протеолитической активности ММП и активности ТИМП и накоплением ВКМ [83].

В последние годы значительное внимание уделяется ММП как сывороточным маркерам фиброза [195]. Обнаружена тесная корреляция между металлопротеазами, их эндогенными ингибиторами и развитием ЦП при токсическом повреждении печени, связанном со злоупотреблением алкоголя, при хроническом воспалении, развивающемся у больных ХГ С [221]. Аналогичные данные получены при развитии экспериментального фиброза у крыс. Использование ММП-8 инициирует развитие цирроза у крыс. Уровень ММП-1 в крови пациентов с ВГ С коррелирует со степенью фиброза в печени и может быть маркером данного патологического процесса [229].

***1.4.2. Тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ (ТИМП)***

Тканевые ингибиторы металлопротеиназ (ТИМП) – это белки, существующие в организме, специфически ингибирующие матриксные металлопротеиназы, таким образом, поддерживающие баланс между деструкцией и формированием матрикса.

Регуляция каталитической активности ММП осуществляется ТИМП, а экспрессии – индуктором экстраклеточных матриксных металлопротеиназ (EMMPRIN, СD 147).

Активность металлопротеиназ подавляется ТИМП. Среди четырех известных ТИМП универсальным и наиболее важным ингибитором ММП является ТИМП-1.

Ключевыми фиброгенными клетками, секретирующими ТИМП и синтезирующими коллаген, являются активированные клетки Ито (называемые также перицитами, адипозоцитами, липоцитами, ЗК) и портальные, перивенулярные миофибробласты. Активированные ЗК секретируют ТИМП-1 и вследствие этого играют основную роль не только в синтезе фиброзной ткани, но и в разрушении матрикса. При хроническом повреждении печеночной ткани замедляются процессы разрушения ВКМ, что связано с нарушенным балансом между уровнем экспрессии ММП и их тканевых ингибиторов (ТИМП) [146,215].

Установлено, что повышенные уровни ММП-1 и -2 в сыворотке крови определяются только на стадии ЦП [96,266]. Повышение уровня ТИМП-1 обнаруживается уже на ранних стадиях ФП, при этом также выявляется пря­мая связь с индексом гистологической активности [96], поэтому сывороточный уровень ТИМП-1 ис­пользуется для оценки фиброгенеза, связанного с выраженным воспалением в печени [254]. Соотноше­ние ТИМП-1/ММП-1 считается более чувствитель­ным в диагностике ФП [266].

Европейское общество изучения фиб­роза печени предлагает совместное определение аминотерминального пептида проколлагена III типа,

ТИМП-1 и гиалуроновой кислоты (алгоритм ELF), что позволяет с более чем 90% специфичностью и более чем 90% чувствительностью подтверждать наличие выраженного ФП [233]. Комбинация гиалу­роновой кислоты, ТИМП-1 и непрямого маркера ФП р2-макроглобулина (диагностическая панель FibroSpect (Prometheus, Inc, США)) позволяет четко разграничивать минимальный фиброз (F0-F1) от значимого фиброза (F2-F4) [221]. Хорошо зарекомендовал себя в диагностике ФП индекс SHASTA, высчитываемый на основании уровней гиалуроновой кислоты и не­прямых маркеров ФП - АСТ и альбумина [185].

Прямые сывороточные маркеры ФП важны не только в выявлении и уточнении степени ФП, но и в оценке эффективности лечения. Так, динамическая оценка уровней гиалуроновой кислоты, аминотерминального пептида проколлагена III типа, YKL-40 и ТИМП-1 показала достоверную корреляцию между достижением стойкого вирусологического ответа, нормализацией биохимических показателей и гисто­логическими признаками активности ФП при хро­ническом гепатите С [213].

В сохранении металлопротеиназ в латентной форме и предотвращении их избыточной активации существенную роль играют тканевые ингибиторы металлопротеиназ. Среди них ТИМП-1 регулирует ферментативную активность ММП-9 *in vivo*. Для нормального протекания процессов реорганизации внеклеточного матрикса необходимо сохранение равновесия между активностью ММП и их ингибиторов [47,62].

**Тканевой ингибитор металлопротеиназы-1 (ТИМП-1):** активность ММП строго контролируется и ингибируется так называемыми ТИМП, которые могут блокировать разрушение экстрацеллюлярного матрикса. Имеются четыре известных ТИМП. Все ТИМП состоят из двух доменов, фиксируемых шестью дисульфидными связями.

***1.4.3. Функция металлопротеиназ и их ингибиторов в деградации матрикса***

В деградации преформированного ВКМ, особенно его фибриллярных белков, ключевую роль играют особые ферменты – матриксные металлопротеиназы (ММП), к которым относятся коллагеназы. Существуют и специфические тканевые ингибиторы ММП (ТИМП), среди которых наибольшее значение имеет ТИМП-1 [39,45,144].

Центральную роль в продукции компонентов ВКМ, матриксных протеаз и их ингибиторов в печени играют ЗК [93,157,186,188]. В разворачивании процесса фиброзирования ключевыми моментами являются активация клеток Купфера и эндотелия под действием местных биологически активных факторов и секреция ими молекул, паракринно воздействующих на ЗК [243].

Выделяют два ведущих варианта деградации матрикса. При первом варианте разрушается матрикс низкой плотности нормальной печени («патологическая деградация»), которая может ухудшить состояние печени. Другой вариант предполагает деградацию избытка рубцовой ткани и поэтому может помочь восстановлению нормальной структуры пораженной печени («восстановительная деградация»).

Обширное семейство ММП (известных также как матриксины) способствует либо патологической, либо восстановительной матриксной деградации, где активность циркулирующих в крови металлопротеиназ и тканевых ингибиторов металлопротеиназ 1 и 2-го типов наиболее полно отражают развитие фиброзного процесса в печени [195], хотя имеются и обратные утверждения [196]. ММП являются кальцийзависимыми ферментами, специализированными на деградации коллагеновых и неколлагеновых структур. В соответствии со специфическими свойствами выделяют пять категорий этих ферментов:

* интерстициальные коллагеназы (ММП-1, -8, -13);
* желатиназы (ММП-2, -9);
* стромелизины (ММП-3, -7, -10, -11);
* мембранные типы (ММП-14, -15, -16, -17, -24, -25);
* металлоэластаза (ММП-12).

Регуляция металлопротеиназ осуществляется на разных уровнях с целью ограничения их активности на отдельном участке во внеклеточной среде. Неактивные ММП могут либо активироваться в результате протеолитического расщепления, либо их подавляют специфические ингибиторы – тканевые ингибиторы металлопротеиназ (ТИМП).

Таким образом, структура коллагеназной активности отражает количество активированных металлопротеиназ и их ингибиторов, особенно ТИМП.

Важно отметить, что прогрессирующий фиброз сочетается с заметным увеличением количества ТИМП-1 и ТИМП-2, вызывающих снижение активности протеаз и поэтому способствующих накоплению матрикса. ЗК являются главным источником этих ингибиторов. Сохраняющаяся экспрессия ТИМП-1 считается основной причиной прогрессирования фиброза [145,146,162,167,190,218,219].

В исследованиях Mann и соавт. глубоко изучена транскрипциональная регуляция промотора ТИМП-1. Его активация, которая ведет к усилению экспрессии ТИМП-1, ингибированию металлопротеиназ и персистирующему фиброзу, зависит от Jun D, как и связь 30 кДа белка со специфическим элементом промотора UTE-1 [203].

***1.4.4. О роли металлопротеиназ и их ингибиторов в обеспечении регенерации поврежденной печени***

Известно, что в регенерации нормальной и пато­логически измененной печени принимают участие все её структурные компоненты: гепатоциты (более 60% клеточной популяции), синусоидальные клет­ки (около 35% всех клеток), а также клетки соеди­нительной ткани (фибробласты, тучные клетки) и ВКМ, на долю кото­рых приходится остальная часть массы этого органа (1-5%) [26].

Синусоидальные клетки (СК) представлены 4 основными разновидностями клеток, имеющих мезенхимальное происхождение: клетки Купфера (КК) или фиксированные макрофаги, которые со­ставляют 20-25% от всей популяции синусоидаль­ных клеток; эндотелиоциты, которые составляют 50-60% и выстилают печеночные синусоиды; перисинусоидальные клетки - клетки Ито (звездча­тые клетки), которые являются предшественниками фибробластов, располагаются в пространстве Диссе и на их долю приходится 5-15% [150] всех СК.

Было показано, что КК поддерживают адекват­ное микроокружение для гепатоцитов за счет ран­ней активации в них лизосомальных гидролаз, а также активации рецептора N-ацетилгликозамина, маннозы и галактозы, который, как полагают, может выполнять роль посредника в пиноцитозе некото­рых гликопротеинов ВКМ; показано также, что КК локально секретируют коллагеназу 4-го типа, а так­же другие ММП: ММП-1, ММП-13, желатиназы и стромолизин, участвуя таким образом в ремоделировании ВКМ и микроокружения гепатоцитов при восстановитель­ной регенерации печени [159]. Механизм этих изменений, вероятнее всего, связан с повышен­ной экспрессией генов ММП и блокированием экспрес­сии генов, ответственных за синтез их ингибиторов. Результатом этого яв­ляется преобладание активности систем деградации ВКМ. В эксперименте при использовании метода гибридизации in situ бы­ли получены высокие концентрации мРНК ММП-13, подтвердившие данное предположение [74,86,111,114,127,162,176,198]. Также отмечено повышение уровня ММП-2 и снижение уровня её ингибитора (ТИМП-2) [208,247,255].

Таким образом, после начала абстиненции функциональная активность звездчатых клеток переключается от процессов синтеза компонентов ВКМ и блокирования процессов деградации к значительному уве­личению активности деградации последнего.

В свою очередь клетки Ито участвуют в процессах обновления и ремоделирования ВКМ не только путем синтеза матриксных белков, но и пу­тем синтеза и секреции ММП (коллагеназ), желатиназ, стромолизинов и их ингибиторов [80], которые регулируют в ВКМ ба­ланс структурных белков за счет регуляции выра­женности гидролиза (деградации) основных белков матрикса. ММП и ТИМП входят в семейство цинкозависимых ферментов [78]. ММП синтезируются в клетках Ито в виде неактивных про­ферментов, которые активируются при отщеплении пропептида, но ингибируются при взаимодействии с эндогенными ТИМП-1 и ТИМП-2. Клетки Ито продуцируют 4 типа ММП мембранного типа, которые ак­тивируются под воздействием TGF-β1. Среди ММП особое значение придается ММП-9 - нейтральной матриксной металлопротеиназе, которая обладает активностью против коллагена 4-го типа, который входит в состав базальной мембраны, а также про­тив частично денатурированных коллагенов 1-го и 5-го типов [143].

Повышение коллагеназной активности ткани регенерирующей здоровой печени после 30% частичной гепатэктомии, очевидно, объясняется избирательной субстратной чувствительностью различных отделов ВКМ к раз­личным ММП (ММП-1 чувствительна к интерстициальному коллагену 1-го типа и ММП-9 - к колла­гену 4-го типа) и ТИМП (ТИМП-1 и ТИМП-2) [143], в результате чего происходит преимущественное усиление деградации коллагена базальных мемб­ран, которое создает благоприятные условия для ускоренного выполнения регуляторных процессов в микроокружении гепатоцитов.

Субэндотелиальный ВКМ низкой плотности, об­разуемый сбалансированно секретируемыми ММП и ТИМП в период физиологической регенерации, представляет собой адекватную среду для доставки регуляторных (информационных и индуктивных) сигналов всем клеткам печени, которые в виде спек­тра цитокинов (преимущественно ростовых факто­ров) сорбированы на ВКМ.

Восприятие цитокиновой сигнализации осу­ществляется клетками с помощью мембранных ре­цепторов, которые, как полагают, передают клеткам (от клетки клетке и внутрь клетки) информацию, закодированную в цитокинах в виде соответствую­щей последовательности аминокислот [64].

Таким образом, пролонгированное сохранение в печени адек­ватной плотности белков базальной мембраны поддерживается кооперативным взаимодействием нормально функционирующих СК, так как синтез и секреция ММП, а также ТИМП - относится к пе­речню регуляторных функций этих клеток (клетки Ито, клетки Купфера), поддерживаемых широким спектром клеточных, надклеточных, органных и системных факторов (гепатотропные, нейрогуморальные, иммунные) через рецептор-опосредованные взаимодействия с ВКМ и гепатоцитами [35].

**ГЛАВА ІІ**

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**2.1. Материал и методы исследования**

В исследование включено 150 больных ХГ С (средний возраст 36,7±9,2), из них 104 (37,2±9,1 лет) мужчины и 46 (35,8±10,6 лет) женщин, находившихся на обследовании и лечении в гастроэнтерологическом отделении ГБУ РД «Республиканская клиническая больница» (г.Махачкала), Республиканском центре инфекционных болезней (г.Махачкала), Медицинском центре «ГЕПАР» (г.Махачкала) с 2010 по 2013 г.

**Критериями включения больных в исследование являлись:**

1. Подписание пациентом добровольного информированного согласия и высокая готовность следовать предписаниям врача;
2. Возраст от 18 до 65 лет;
3. Наличие достоверного диагноза ХГ С, выставленного на основании комплексного анализа данных физикального обследования, анамнеза, результатов лабораторных и инструментальных исследований *(указания на трансфузии компонентов крови, оперативные вмешательства, парентеральное введение наркотиков, отсутствие стигм алкогольной болезни печени, аутоиммунных проявлений, наследственных метаболических расстройств)*.
4. Наличие в сыворотке крови антител класса IgM, IgG к ВГ С (anti-HCV IgG+);
5. Отсутствие избыточного веса тела, ожирения, т.е. индекс массы тела не более 26 кг/м2.

**Критериями исключения больных из исследования являлись:**

1. Невозможность больного дать добровольное информированное согласие на участие в исследовании;
2. Решение пациента не принимать участие в исследовании;
3. Нейтропения, тромбоцитопения, анемия, увеличение сывороточного уровня креа­тинина более чем в 1,5 раза по сравнению с нормой;
4. Избыточный вес тела, ожирение, т.е. индекс массы тела более 26 кг/м2;
5. Депрес­сия и другие психические заболевания;
6. Судорожный синдром в анамнезе;
7. Аутоиммунные заболева­ния;
8. Беременность или корм­ление грудью;
9. Возраст младше 18 и старше 65 лет;
10. Злоупотребление алкоголем;
11. Любые острые и хронические заболевания печени инфекционного, токсического, аутоиммунного или метаболического генеза, кроме ВГ С;
12. Любые инфекционные, аутоиммунные и онкологические заболевания;
13. Индивидуальная непереносимость намеченных для терапии препаратов;
14. Участие в любом другом исследовании.

**Критериями выхода больных из исследования являлись** *(причины выхода из исследования регистрировались в соответствующем разделе индивидуальной регистрационной карты пациента)***:**

1. Исключение пациента из исследования по усмотрению исследователя, если исследование наносит вред пациенту;
2. Возникновение нежелательных явлений, которые расцениваются как связанные с приёмом намеченных в исследовании терапевтических препаратов;
3. Решение пациента прекратить своё участие в исследовании;
4. Несоблюдение пациентом режима приёма лечебных препаратов;
5. Появление в процессе исследования критериев исключения из исследования;
6. Отсутствие вирусологического ответа у больных со 2-м и 3-м генотипами на 12-й неделе и 1-м генотипом на 24-й неделе при проведении противовирусной терапии.

Контрольную группу составили 35 здоровых добровольцев в возрасте от 19 до 46 лет (средний возраст 32,5±10,6), в которую были включены врачи-ординаторы Республиканской клинической больницы МЗ РД, сотрудники и лица, проходившие профилактическое обследование в медицинском центре «Гепар», при условии отсутствия вышеперечисленных критериев исключения и дачи информированного добровольного согласия на участие в данном исследовании.

Группа лечения была сформирована из 80 больных ХГ С (n=80), включенных ранее в основную группу (n=150), рандомизированные по возрасту и полу с группой сравнения (n=45), наблюдавшихся в Республиканском центре инфекционных болезней МЗ РД и Медицинском центре «Гепар».

Группу сравнения составили 45 пациентов, наблюдавшихся в Республиканском центре инфекционных болезней МЗ РД и Медицинском центре «Гепар», которые ранее входили в основную группу исследования (n=150) и в последующем были рандомизированы по возрасту и полу с группой лечения (n=80). Пациентам из группы сравнения не была запланирована патогенетическая терапия ПегИНФ-α-2а и рибавирином, однако, симптоматическая терапия проводилась.

Пациенты обследованы по единому плану, который, в соответствии с задачами настоящего исследования, предусматривал проведение:

* физикального исследования (расспрос и осмотр с применением методов пальпации, перкуссии, аускультации);
* лабораторных исследований (общий и биохимический анализ крови, коагулограмма, общий анализ мочи, кала);
* инструментальных исследований (ультразвуковое исследование органов брюшной полости, фиброэластометрия);
* исследование содержания цитокинов TGF-β1 и ТИМП-1в сыворотке крови.

Стационарное лечение больных проводилось в Республиканском центре инфекционных болезней МЗ РД.

Диагноз ХГ С устанавливали на основании комплексного анализа данных физикального обследования, результатов лабораторных и инструментальных исследований.

В пользу вирусной этиологии хронического гепатита указывали:

* анамнестические данные (указания на трансфузии компонентов крови, оперативные вмешательства, парентеральное введение наркотиков);
* данные, полученные при осмотре пациента (отсутствие стигм алкогольной болезни печени, аутоиммунных проявлений, наследственных метаболических расстройств);
* результаты вирусологического обследования (выявление в сыворотке крови маркеров HCV-инфекции: HCV-Ab и HCV RNA).

**2.2. Физикальное исследование**

Продолжительность заболевания устанавливалась на основе анамнестических указаний на сроки первого выявления клинико-лабораторных проявлений ХГ С.

Степень выраженности симптомов ХГ С условно оценивалась в баллах:

* астенические проявления - в соответствии со шкалой оценки функционального статуса Zubrod-ECOG: 0 баллов – способность сохранять нормальную физическую активность без ограничения; 1 балл – ограничение физической нагрузки с сохранением способности выполнять легкую работу; режим амбулаторного наблюдения; 2 балла – сохранение способности к самообслуживанию, но неспособность выполнять какую-либо физическую работу; период бодрствования более половины времени суток; режим амбулаторного наблюдения; 3 балла – способность только к ограниченному самообслуживанию, нахождение в постели или кресле более половины времени суток; 4 балла – полная недееспособность, невозможность самообслуживания, постоянное нахождение в постели;
* болевой синдром, с локализацией в правом подреберье: 0 – отсутствует; 1 – умеренной интенсивности; 2 – средней интенсивности; 3 – выраженной интенсивности;
* лихорадка: 0 – отсутствует; 1 – субфебрильная; 2 – фебрильная (интермиттирующего характера);
* желтуха: 0 – не выявляется; 1 – субиктеричность склер; 2 – желтушное окрашивание кожи и склер;
* геморрагические проявления: 0 – отсутствуют; 1 – признаки спонтанной кровоточивости десен и слизистой носа; 2 – наклонность к образованию кровоподтеков;
* увеличение печени: 0 – не выявляется; 1 – увеличение высоты печеночной тупости на 1,5-2 см.; 2 – увеличение на 3-4 см.; 3 – увеличение на 5-7 см.; 4 – увеличение на 8-12 см.;
* увеличение селезенки: 0 – не выявляется; 1 – увеличение длинника на 1-2 см.; 2 – увеличение длинника на 3-4 см.; 3 – увеличение на 5-7 см.

**2.3. Лабораторные исследования**

Всем больным проводился общий анализ крови, мочи, кала.

Биохимическое исследование крови (общий и прямой билирубин, АЛТ, АСТ, ГГТ, щелочная фосфатаза, общий белок, креатинин, фибриноген, мочевина, амилаза панкреатическая, альбумин, тимоловая проба, глюкоза) выполнялось на автоматическом анализаторе «Би-Ан» (Россия).

Маркеры HBV- и HCV-инфекции (HBsAg, HBsAb, HВeAg, HВeAb, HВcor-Ab (суммарные и IgM), HCV-Ab (класса IgM, IgG) исследовались иммуноферментным методом (тест-наборы «Вектор-Бест», Россия-Новосибирск).

Перечисленные исследования осуществлялись в лаборатории Медицинского центра «ГЕПАР».

При наличии симптомов хронического заболевания печени и/или обнаружении HCV-Ab в сыворотке крови дополнительно оценивалось наличие признаков репликации (HCV RNA в сыворотке крови) и генотипа HCV методом полимеразной цепной реакции (стандартные тест-наборы «ДНК-Технология», г.Москва). Для больных, которым была назначена терапия противовирусными препаратами (n=80), дополнительно проводился количественный анализ HCV (вирусная нагрузка). Исследование HCV RNA качественно и количественно, генотипа также проводилось в Медицинском центре «ГЕПАР».

**2.4. Инструментальные исследования**

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости выполнялось в Медицинском центре «ГЕПАР» на аппарате «ALOKA–(альфа) 6». При этом оценивались размеры и акустическая структура печени и селезенки, состояние внутри- и внепеченочных желчных протоков, сосудов системы воротной вены, печеночных вен, внутрибрюшных лимфоузлов.

При подозрении на наличие портальной гипертензии в Медицинском центре «ГЕПАР» на аппарате «Olympus» (Япония) проводилась фиброэзофагогастродуоденоскопия. Целью исследования являлась оценка состояния вен пищевода и кардиального отдела желудка, слизистой желудка и 12-перстной кишки (на предмет наличия печеночной гастропатии).

**2.5. Фиброэластометрия**

Одним из высокотехнологичных неинвазивных методов оценки степени фиброза печени является фиброэластометрия - определение фиброза с помощью упругих волн. Исследования проводились на аппарате «Фиброскан» (Echosens, Франция).

Процедура безболезненна и занимает несколько минут. Результаты отображаются на мониторе и заносятся в электронную базу данных пациентов. Специальной подготовки к процедуре не требуется. Исследование проводится в положении пациента лежа на спине с максимальным отведением правой руки. Никаких неприятных ощущений исследование не вызывает.

В начале исследования и на фоне проводимой этиотропной терапии группе лечения (n=80) и сравнения (n=45) двухкратно, т.е. до начала и через 24 недели после лечения (противовирусной и дезинтоксикационной, соответственно), была проведена фиброэластометрия.

Контрольной группе фиброэластометрия печени не проводилась.

**2.6. Исследование содержания трансформирующего фактора роста (TGF-β1) в сыворотке крови**

Концентрацию цитокина TGF-β1 в сыворотке крови определяли методом ИФА. Для исследования концентрации цитокинов использовались коммерческие тест-наборы «R@D» systems (США).

Исследование проводилось в лаборатории Медицинского центра «ГЕПАР». Постановка всех реакций выполнялась в соответствии с инструкциями фирм-изготовителей.

Общий принцип проведения ИФА подразумевал 2 ступени, на которых происходили иммунные взаимодействия.

В каждом тест-наборе содержались специальные планшеты с ячейками, внутренняя поверхность которых была покрыта моноклональными антителами к определенному цитокину. На первом этапе реакции, при контакте биологической жидкости или супернатанта с поверхностью планшета происходило связывание цитокина со специфическими антителами. После тщательного отмывания ячеек от остальных компонентов исследуемой жидкости добавляли моноклональные антитела «второго слоя» и конъюгат стрептавидина с пероксидазой.

Во время этапа инкубации происходило связывание антител «второго слоя» с твердой фазой комплекса «антиген-антитело» на поверхности ячеек. Связанные с антителами «второго слоя» комплексы взаимодействовали с конъюгатом. В тест-наборах для определения концентрации цитокинов использовались связанные с биотином (биотинилированные) антитела «второго слоя». Высокое сродство биотина к стрептавидину позволяло повысить чувствительность метода.

В последующем проводилось тщательное отмывание ячеек, чтобы предотвратить задержку в них свободных молекул антител «второго слоя» и конъюгата. Затем в ячейки добавляли жидкий хромогенный субстрат конъюгата с ферментативной активностью (это третий, неиммунный, этап реакции). Взаимодействие фермента с субстратом сопровождалось окрашиванием содержимого ячеек, интенсивность которого была пропорциональна содержанию цитокина в исследуемом образце жидкости. Реакция останавливалась «стоп-раствором». Интенсивность окраски измерялась на спектрофотометре. По результатам реакции со стандартными растворами, входящими в тест-набор, концентрация цитокина в которых известна, строилась стандартная кривая (по оси абсцисс откладывались значения концентрации цитокина, по оси ординат – степень поглощения монохроматического света). Содержание цитокина в исследуемой жидкости определялось по стандартной кривой, исходя из известной степени поглощения света.

Для повышения точности результатов проводили ИФА в парных ячейках. За истинное значение концентрации цитокина принималось большее.

Взятие образцов крови для исследования концентрации цитокинов производили одномоментно с получением крови для проведения других лабораторных анализов, предусмотренных в плане обследования.

Образцы крови получали с помощью апирогенного материала во избежание механической травмы, активации клеток крови и искажения результатов исследования. После образования сгустка производили центрифугирование крови и осторожно отделяли сыворотку крови. При проведении исследования в течение 24 ч. сыворотка сохранялась в пластиковых пробирках при температуре +2 - 4° С, при необходимости более длительного хранения – при температуре -20° С (не более 2 месяцев). Размораживание сыворотки перед исследованием производили при комнатной температуре, до достижения однородного состояния и выравнивания её температуры с температурой воздуха. Повторному замораживанию образцы не подвергались.

**2.7. Исследование содержания тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы 1 - типа (ТИМП-1) в сыворотке крови**

Концентрацию цитокинов ТИМП-1 в сыворотке крови определяли методом ИФА. Для исследования концентрации цитокинов использовались коммерческие тест-наборы «R@D» systems (США).

Исследование проводилось в лаборатории Медицинского центра «ГЕПАР». Постановка всех реакций выполнялась в соответствии с инструкциями фирм-изготовителей.

Для анализа использовалась человеческая сыворотка. Отделяли сыворотку от сгустка эритроцитов после свёртывания крови и плазму от эритроцитов как можно быстрее. Образцы, содержащие видимый преципитат, отделяли от него до анализа. Для исследования не использовались сильно гемолизированные или липемические образцы.

Клинические образцы хранились при 2° - 8°C и быстро разделялись перед замораживанием и хранением при -20°C для предотвращения потери биоактивности ТИМП-1.

Общий принцип состоит в том, что антитела к ТИМП-1 адсорбированы в ячейках планшета. ТИМП-1, присутствующий в образцах или стандартах, связывается с антителами, сорбированными в ячейках планшета.

Добавляемые биотинилированные анти-ТИМП-1 антитела связываются с ТИМП-1, захваченными сорбированными в лунках антителами. После инкубации и промывки из ячеек удаляется не связавшийся биотиновый конъюгат анти-ТИМП-1, и в ячейки добавляется конъюгат стрептавидин-пероксидаза (стрептавидин- HRP), связывающий биотин, конъюгированный с анти-ТИМП-1 антителами.

После инкубации и промывки из ячеек удаляется не связавшийся стрептавидиновый конъюгат, и в ячейки добавляется субстратный раствор, который взаимодействует с ферментным комплексом с образованием окрашенного раствора.

Интенсивность окраски, измеренная на длине волны 450 нм, прямо пропорциональна концентрации ТИМП-1, присутствующего в образцах.

Концентрация ТИМП-1 в образцах определяется по стандартной кривой, построенной по 7 приготовленным разведениям стандарта.

**2.8. Статистическая обработка данных**

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием критерия Стьюдента, корреляционного анализа по Пирсону. Полученные результаты также анализировались при помощи статистических программ Statistica 6.0 и Excel. Применялись параметрические и непараметрические статистические методы: описательная статистика, сравнение средних величин с расчетом t-критерия Стьюдента (и оценкой его значимости p). Графики построены и оформлены при помощи программы Excel и Statistica 6.0. За уровень достоверности статистических показателей принято p<0,05.

**ГЛАВА III**

* 1. **Клиническая и лабораторно-инструментальная характеристика больных ХГ С**

ХГ С был диагностирован у 150 больных. Возраст больных варьировал от 19 до 59 лет (средний возраст 36,7±9,2), из них 104 (69,3%) (37,2±9,1 лет) мужчины и 46 (30,7%) (35,8±10,6 лет) женщин.

Различие по возрасту между мужчинами и женщинами недостоверное (p=0,48).

У 108 (72%) пациентов продолжительность заболевания (по данным анамнеза) составила до 10 лет, у 42 (28%) более 10 лет ***(рис.2)***.

***Рис.2*** *Распределение больных ХГ С в зависимости от длительности заболевания (n=150).*

Пациенты жаловались на вялость, слабость, быструю утомляемость, снижение трудоспособности, неинтенсивные ноющие боли в правом подреберье, не связанные с приемом пищи; периодически - желтушное окрашивание склер.

Астенический синдром, который проявлялся повышенной утомляемостью, ослаблением способности к продолжительному физическому и умственному напряжению, раздражимостью, повышенной возбудимостью, понижением настроения, слезливостью, непереносимостью яркого света, громких звуков и резких запахов различной степени выраженности, выявлен у 96 (64,0%) больных. В соответствии с оценкой функционального статуса астения в 0 баллов оценена у 127 (84,7%) больных, в 1 балл у 23 (15,3%).

Болевой синдром наблюдался у 68 (45,3%) пациентов ХГ С, из них слабо выраженной степени у 52 (34,7%), умеренно выраженный у 16 (10,6%) больных.

Стойкое повышение температуры тела до субфебрильных цифр наблюдалось у 58 (38,7 %) больных.

Симптомы, выявленные при физикальном обследовании, включали: желтуху различной степени выраженности, увеличение размеров печени и селезенки, болезненность печени при пальпации.

Субиктеричность склер наблюдалась у 34 (22,7%) больных, желтушное окрашивание склер и кожи у 14 (9,3%).

Увеличение печени на 1-2 см отмечалось у 92 (61,3%) больных, на 3-4 см - у 23 (15,3%).

У 35 (23,3%) больных ХГ С выявлено увеличение длинника селезенки на 1-2 см.

Особенности клинических проявлений ХГ С у больных на момент включения в исследование представлены на ***рисунке 3****.*

***Рис.3*** *Клинические проявления больных ХГ С.*

В *таблице 3* представлены основные биохимические показатели крови больных ХГ С.

***Таблица 3.*** *Основные показатели биохимического анализа крови у больных ХГ С (n=150).*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатель | Больные ХГ С, (n=150) M±m | Норма |
| Общий белок, г/л | 72,1±1,4 | 60 – 85 |
| Альбумин, г/л | 41,5±1,2 | 35 – 50 |
| Общий билирубин, мкмоль/л | 23,7±3,1 | 3,4 – 22,2 |
| Прямой билирубин, мкмоль/л | 9,1±1,5 | 0 – 5,4 |
| ПИ, % | 89,6±2,1 | 85 – 105 |
| АсАТ, МЕ | 70,4±38,9 | до 30 |
| АлАТ, МЕ | 76,3±36,8 | до 30 |
| ЩФ, ед./л | 149,2±16,1 | до 180 |
| ГГТ, МЕ | 47,3±5,5 | до 61 |

Как видно из таблицы 3, только содержание АлАТ, АсАТ и общего билирубина у исследованных больных было повышено по сравнению с нормальными показателями.

При сравнительном изучении цитолитических ферментов было установлено, что активность трансаминаз была нормальной (повышение до 1,5 раз) у 49 (32,7%) больных, незначительно (1,5-3 норм) повышенной у 54 (36,0%) и умеренной (3-5 норм) у 47 (31,3%) пациентов ***(рис.4)*.**

***Рис.4*** *Распределение больных ХГ С в зависимости от уровня цитолитических ферментов.*

В исследование включались только больные, у которых в крови выявлялись anti-HCV IgG. У всех 150 (100%) больных при первичном обследовании в сыворотке крови обнаружен HCV RNA (признак репликации HCV). У всех больных определяли генотип ВГ С методом полимеразно-цепной реакции (ПЦР). При этом установлено, что 1-й генотип встречался у 98 (65,3%) пациентов, 2-й у 15 (10,0%) и 3-й генотип – у 37 (24,7%).

У 80 больных, которым была назначена терапия противовирусными препаратами, определяли вирусную нагрузку (ВН). Оказалось, что высокая вирусная нагрузка – более 800.000 МЕ/мл. наблюдалась у 33 (41,3%) пациентов, а у 47 (58,7%) низкая вирусная нагрузка – менее 800.000 МЕ/мл. (*таблица 4*).

***Таблица 4.*** *Маркеры ВГ С у обследованных больных.*

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Группа | Anti HCV+ | HCV  RNA | Генотип 1 | Генотип 2 | Генотип 3 | >800000 МЕ/мл | <800000 МЕ/мл |
| ХГ С | 100% | 100% | 65,3% | 10,0% | 24,7% | 41,3% | 58,7% |

По данным иммуноферментного анализа, маркеры HBV-инфекции (HBs-Ag, HBs-Ab, HBe-Ag, HBe-Ab, HBcor-Ab) у обследованных пациентов отсутствовали.

Из общего числа больных были сформированы 2 группы: лечения и сравнения, которые были рандомизированы по возрасту, полу, клинико-биохимическим показателям и результатам проведенной фиброэластометрии.

В *таблице 5* представлены основные показатели лабораторного исследования больных основной группы и группы сравнения.

***Таблица 5.*** *Лабораторные показатели у больных ХГ С основной группы (n=150) и группы сравнения (n=45)*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатели | Группа  основная  (n=150) | Группа  сравнения  (n=45) | p |
| Общий белок, г/л | 72,1±1,4 | 72,8±2,1 | >0,05 |
| Альбумин, г/л | 41,5±1,2 | 43,8±1,4 | >0,05 |
| Общий билирубин, мкмоль/л | 23,7±3,1 | 21,6±1,9 | >0,05 |
| Прямой билирубин, мкмоль/л | 9,1±1,5 | 10,7±1,4 | >0,05 |
| ПИ, % | 89,6±2,1 | 90,2±3,2 | >0,05 |
| АСТ, МЕ | 70,4±38,9 | 64,6±34,5 | >0,05 |
| АЛТ, МЕ | 76,3±36,8 | 72,8±42,8 | >0,05 |
| ЩФ, Ед/л | 149,2±16,1 | 139,1±14,2 | >0,05 |
| ГГТ, МЕ | 47,3±5,5 | 43,8± 5,7 | >0,05 |

* 1. **Характеристика контрольной группы**

Контрольную группу составили 35 здоровых добровольцев в возрасте от 19 до 46 лет (средний возраст 32,5±10,6 лет), из них 23 (65,7%) мужчины и 12 (34,3%) женщин.

Различия по полу (p=0,26) и возрасту (p=0,24) с больными ХГ С были недостоверны.

В контрольную группу не включались лица, имеющие клинические признаки острых или хронических заболеваний любой природы. Всем лицам, включенным в контрольную группу проводились общий и биохимические анализы крови, исследование маркеров HBV, HCV-инфекции иммуноферментным методом.

**ГЛАВА IV**

**РЕЗУЛЬТАТЫ ЭЛАСТОМЕТРИИ У БОЛЬНЫХ ХГ С**

* 1. **Сравнительная характеристика показателя эластичности печеночной ткани и клинико-лабораторных данных у больных**

**ХГ С**

Фиброэластометрия была проведена всем 150 пациентам с ХГ С в возрасте от 19 до 59 лет (средний возраст 36,7±9,2 лет). Из них у 52 (34,7%) больных выявлена 0 стадия (средний показатель эластичности (ПЭ) 5,3±0,58 кПа), у 38 (25,3%) – 1-я стадия (средний ПЭ 7,3±0,55 кПа), у 22 (14,7%) – 2-я стадия (средний ПЭ 9,6±0,62 кПа), у 18 (12,0%) – 3-я стадия (средний ПЭ 15,2±2,4 кПа) и у 20 (13,3%) – 4-я стадия фиброза по шкале METAVIR (средний ПЭ 23,7±1,7кПа) ***(рис.5).***

***Рис.5*** *Распределение больных группы исследования (n=150) ХГ С по результатам фиброэластометрии.*

При исследовании данных среднего ПЭ в зависимости от длительности заболевания установлено, что при анамнезе болезни более 10 лет ПЭ печеночной ткани были значительно повышены по сравнению с таковыми с более коротким анамнезом *(таблица 6)*. При изучении корреляционных взаимосвязей между ними выявлена значимая связь (r=0,84; p<0,05).

***Таблица 6.*** *Показатель эластометрии у больных ХГ С в зависимости от длительности заболевания, (M±SD).*

|  |  |
| --- | --- |
| Анамнез болезни | Среднее значение (кПа) |
| До 10 лет | 7,6±0,82 |
| Более 10 лет | 12,3±1,48 |
| Значение р | p<0,05 |

Изучение результатов ПЭ в зависимости от выраженности астенического синдрома показало, что при оценке степени астении в 1 балл средний ПЭ печеночной ткани был повышен в сравнении с соответствующими значениями больных с астенией 0 баллов.

При изучении корреляционных связей установлено наличие слабой прямой связи между ПЭ, с одной стороны, и выраженностью астенического синдрома, с другой, но при этом достоверной взаимосвязи не выявлено (r=0,28, р >0,05)*(таблица 7).*

***Таблица 7.*** *Показатель эластометрии у больных ХГ С в зависимости от степени астенического синдрома, (M±SD).*

|  |  |
| --- | --- |
| Астения | Среднее значение (кПа) |
| 0 баллов | 9,2±1,4 |
| 1 балл | 9,8±1,8 |
| Значение р | p>0,05 |

Из объективных симптомов и по данным УЗИ у большинства больных ХГ С отмечалось увеличение печени различной степени выраженности. Средний ПЭ печеночной ткани был также повышен в зависимости от размеров увеличения печени, где выявлена слабая положительная корреляционная взаимосвязь, однако, достоверная связь не прослеживалась (r=0,22; p>0,05).

Таким образом, при исследовании среднего ПЭ печеночной ткани в зависимости от клинических особенностей заболевания нами установлено достоверное его повышение по мере нарастания длительности анамнеза заболевания. При изучении возможных взаимосвязей с выраженностью астенического синдрома и степени увеличения размеров печени, с одной стороны, и ПЭ, с другой, прослеживалась слабая корреляционная связь, однако, достоверной связи не выявлено.

В *таблицах 8, 9* представлены результаты изучения возможных взаимосвязей между средним ПЭ печеночной ткани в зависимости от генотипа ВГС и вирусной нагрузки.

***Таблица 8.*** *Показатель эластометрии у больных ХГ С в зависимости от генотипа ВГ С, (M±SD).*

|  |  |
| --- | --- |
| Генотип | Среднее значение (кПа) |
| 1 генотип | 9,0±1,8 |
| 2 генотип | 8,4±1,1 |
| 3 генотип | 8,2±0,9 |
| Значение р | р1-2>0,05  р1-3>0,05  р2-3>0,05 |

У больных ХГ С генотипом 1 его уровень был повышен по сравнению с таковыми у пациентов с генотипами 2 и 3. Уровень среднего ПЭ печеночной ткани у исследованных больных ХГ С с высокой вирусной нагрузкой был повышен по сравнению с соответствующими показателями при низкой вирусной нагрузке. Но при этом достоверной разницы между исследуемыми группами установлено не было (r=0,18, p>0,05; r=0,22, p>0,05, соответственно).

***Таблица 9.*** *Показатель эластометрии у больных ХГ С в зависимости от вирусной нагрузки, (M±SD).*

|  |  |
| --- | --- |
| Вирусная нагрузка | Среднее значение (кПа) |
| <800.000 МЕ/мл | 9,0±1,8 |
| >800.000 МЕ/мл | 8,4±1,1 |
| Значение р | р>0,05 |

Сравнительная характеристика среднего ПЭ печеночной ткани в зависимости от активности цитолитических ферментов показана в *таблице 10***.**

***Таблица 10.*** *Сравнительный анализ среднего ПЭ печеночной ткани у больных ХГ С в зависимости от активности АсАТ/АлАТ (M±SD).*

|  |  |
| --- | --- |
| Больные ХГ С | ПЭ, кПа. |
| АсАТ/АлАТ до 1,5 N | 5,7±1,9 |
| АсАТ/АлАТ от 1,5 до 3 N | 9,7±5,4 |
| АсАТ/АлАТ от 3 до 5 N | 15,2±6,2 |
| Значение р | р1-2>0,05  р1-3˂0,05  р2-3>0,05 |

Как видно из таблицы 10, ПЭ печеночной ткани у исследованных больных ХГ С в зависимости от активности АлАТ/АсАТ с минимальной активностью сывороточных трансаминаз (5,7±1,9) недостоверно (p>0,05) было понижено по сравнению с показателем у пациентов в группе с активностью АлАТ/АсАТ от 1,5 до 3 норм (5,7±1,9 и 9,7±5,4), однако, при сравнении с показателем в группе с активностью АлАТ/АсАТ от 3 до 5 норм выявлена прямая достоверная (r=0,62, p˂0,05 и r=0,62, p˂0,05) связь (5,7±1,9 и 15,2±6,2, соответственно).

При изучении зависимости между средним ПЭ печеночной ткани и концентрацией цитолитических ферментов у больных ХГ С нами установлены следующие результаты. Выявлена прямая корреляционная взаимосвязь между ПЭ, с одной стороны, и уровнем АлАТ/АсАТ, с другой (r=0,36, p>0,05 и r=0,44, p>0,05, соответственно) (*таблица 11*).

Исследование среднего ПЭ печеночной ткани в зависимости от других биохимических показателей (билирубина, альбумина, общ.белка, ГГТ, ЩФ) у больных ХГС также достоверной связи не обнаружило (p>0,05).

***Таблица 11.*** *Содержание сывороточных трансаминаз в сыворотке крови у больных ХГ С в зависимости от стадии фиброза (r=0,36, p>0,05 и r=0,44, p>0,05, соответственно).*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Стадия фиброза | АлАТ | АсАТ |
| 0 стадия | 43,3±15,3 | 37,4±18,4 |
| 1 стадия | 70,6±14,2 | 59,0±13,7 |
| 2 стадия | 106,6±30,2 | 99,7±31,7 |
| 3 стадия | 109,7±36,4 | 107,9±37,6 |
| 4 стадия | 108,9±24,2 | 112,2±28,9 |
| Значение р | р1-2>0,05  р1-3>0,05  р1-4>0,05  р1-5>0,05  р2-3>0,05  р2-4>0,05  р2-5>0,05  р3-4>0,05  р3-5>0,05  р4-5>0,05 | р1-2>0,05  р1-3>0,05  р1-4>0,05  р1-5>0,05  р2-3>0,05  р2-4>0,05  р2-5>0,05  р3-4>0,05  р3-5>0,05  р4-5>0,05 |

* 1. **. Характеристика результатов фиброэластометрии у больных группы лечения и сравнения**

В группе лечения (n=80) **(*рис.6*)** ввозрасте от 20 до 57 лет (средний возраст 36,2±8,8 лет). Из них у 32 (40,0%) больных выявлена 0 стадия (средний ПЭ 5,3±0,82 кПа), у 25 (31,25%) – 1-я стадия (средний ПЭ 7,0±0,64 кПа), у 14 (17,5%) – 2-я стадия (средний ПЭ 9,8±0,52 кПа), у 7 (8,75%) – 3-я стадия (средний ПЭ 14,3±3,7 кПа) и у 2 (2,5%) – 4-я стадия фиброза по шкале METAVIR (средний ПЭ 24,8±2,8 кПа).

***Рис.6.*** *Распределение больных группы лечения (n=80) ХГ С по результатам фиброэластометрии.*

***Рис.7.*** *Распределение больных группы сравнения (n=45) ХГ С по результатам фиброэластометрии.*

В группе сравнения (n=45) ***(рис.7)*** возрасте от 19 до 55 лет (средний возраст 35,0±9,4 лет). Из них у 19 (42,22%) больных выявлена 0 стадия (средний показатель эластичности (ПЭ) 5,0±0,76 кПа), у 14 (31,11%) – 1-я стадия (средний ПЭ 7,4±0,86 кПа), у 7 (15,56%) – 2-я стадия (средний ПЭ 9,6±0,95 кПа), у 3 (6,67%) – 3-я стадия (средний ПЭ 13,1±2,8 кПа) и у 2 (4,44%) – 4-я стадия фиброза по шкале METAVIR (средний ПЭ 23,8±3,1 кПа).

**ГЛАВА V**

**ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОКИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ У БОЛЬНЫХ**

**ХГ С**

**5.1. Сывороточные показатели системы цитокинов у больных ХГ С**

Исследование уровня цитокинов TGF-β1 и ТИМП-1 в сыворотке крови проведено 150 больным ХГ С. При этом установлено: содержание TGF-1β было повышено у 103 (68,7%) больных, понижено у 20 (13,3%) и соответствовало показателям здоровых лиц у 27 (18,0%) больных ХГ С. Среднее значение TGF-β1 составило 529,8±118,8 пг/мл., что значимо (р<0,01) повышено по сравнению с соответствующими данными контрольной группы (257,3±58,9 пг/мл.).

Содержание ТИМП-1 в сыворотке крови было повышено у 114 (76%) больных ХГС, понижено у 17 (11,3%) и соответствовало показателям группы контроля у 19 (12,7%). Средний показатель ТИМП-1 также достоверно (р<0,01) отличался от такового контрольной группы (736,9±149,8 и 458,6±76,3 нг/мл., соответственно)*(таблица 12)*.

***Таблица 12.*** *Содержание цитокинов в сыворотке крови больных ХГ С, (M±SD).*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Группа | TGF-β1, пг/мл. | ТИМП-1,нг/мл. |
| Больные ХГ С, n=150 | 529,8±118,8 | 736,9±149,8 |
| Здоровые, n=35 | 257,3±58,9 | 458,6±76,3 |
| Значение р | p<0,01 | p<0,01 |

Таким образом, у больных ХГ С показатели цитокинов TGF-β1 и ТИМП-1 в сыворотке крови были значимо повышены по сравнению с соответствующими значениями контрольной группы.

Изучение уровня исследованных цитокинов в зависимости от пола, возраста больных, путей инфицирования ХГ С достоверной разницы не выявило.

При исследовании содержания цитокинов в зависимости от длительности заболевания установлено, что при анамнезе болезни более 10 лет показатели TGF-β1 и ТИМП-1 были повышены по сравнению с таковыми с более коротким анамнезом. Но при изучении корреляционных взаимосвязей достоверной разницы при этом не выявлено (r=0,20, r=0,24, p>0,05, соответственно) *(таблица 13)*

***Таблица 13.*** *Содержание цитокинов в сыворотке крови у больных ХГ С в зависимости от длительности заболевания, пг/мл (M±SD).*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Анамнез болезни | TGF-β1, пг/мл. | ТИМП-1,нг/мл. |
| До 10 лет | 584,2±108,4 | 784,8±132,4 |
| Более 10 лет | 652,3±132,2 | 842,2±154,8 |
| Значение р | p>0,05 | p>0,05 |

Изучение содержания цитокинов в сыворотке крови в зависимости от выраженности астенического синдрома показало, что при оценке степени астении в 1 балл уровень TGF-β1 и ТИМП-1 были повышены по сравнению с соответствующими значениями больных в 0 баллов. При изучении корреляционных связей установлено наличие прямой связи между TGF-β1 и ТИМП-1, с одной стороны, и выраженностью астенического синдрома, с другой, но при этом достоверной взаимосвязи не выявлено (r=0,32, р>0,05, r=0,26, p>0,05, соответственно) **(*рис.8*)**.

**p>0,05**

**p>0,05**

***Рис. 8.*** *Содержание цитокинов в сыворотке крови в зависимости от выраженности астенического синдрома.*

Из объективных симптомов и по данным УЗИ у большинства больных ХГ С отмечалось увеличение печени различной степени выраженности. Содержание TGF-β1 и ТИМП-1 было также повышено в сыворотке крови в зависимости от размеров увеличения печени, но достоверной связи при этом не установлено (p>0,05).

Таким образом, при исследовании уровня цитокинов в сыворотке крови в зависимости от клинических особенностей заболевания нами установлено повышение содержания TGF-β1 и ТИМП-1 по мере нарастания длительности анамнеза заболевания, выраженности астенического синдрома и степени увеличения размеров печени.

При изучении возможных взаимосвязей между показателями цитокинов в зависимости от генотипа ВГ С и вирусной нагрузки нами установлены следующие результаты. У больных ХГ С генотипом 1 уровень TGF-β1 был повышен по сравнению с таковыми пациентов с генотипами 2 и 3. Но при этом достоверной разницы между исследуемыми группами установлено не было. По содержанию ТИМП-1 больные ХГ С в зависимости от генотипа достоверно не отличались между собой (p>0,05).

Уровень содержания TGF-β1 у исследованных больных ХГ С высокой вирусной нагрузкой был значимо повышен по сравнению с соответствующими показателями при низкой вирусной нагрузке. При изучении корреляционных взаимосвязей между ними выявлена достоверная связь (712,5±72,2; 538,2±68,3 соответственно) (p˂0,05). Аналогичная корреляция прослеживалась при оценке средних концентрации ТИМП-1 в указанных группах, т.е. уровень ТИМП-1 в группе больных ХГ С высокой вирусной нагрузкой был значимо выше по сравнению с таковыми при низкой вирусной нагрузке (938,1±92,7; 754±81,3 соответственно) (p˂0,05) **(*рис.9*)**.

***Рис. 9.*** *Сравнительная оценка концентрации цитокинов в зависимости от генотипа ВГ С и вирусной нагрузки (p>0,05).*

Сравнительная характеристика сывороточных показателей цитокинов в зависимости от активности цитолитических ферментов показана в *таблице 14.*

Как видно из таблицы 14, средняя концентрация TGF-β1 у исследованных больных ХГ С в зависимости от активности АлАТ/АсАТ с минимальной активностью цитолитических ферментов (434,8±95,7) значимо (p<0,05) была понижена по сравнению с показателем у пациентов с активностью АлАТ/АсАТ 1,5-3 норм и 3-5 норм (576,8±115,1 и 683,4±100,1, соответственно). Средний показатель ТИМП-1 у пациентов с активностью АсАТ/АлАТ до 1,5 норм (633,1±90,6) был также значимо (p<0,05) ниже по сравнению с содержанием данного цитокина при незначительной и умеренной цитолитической активности (781,7±150,2 и 860,5±182,5, соответственно).

***Таблица 14.*** *Сравнительный анализ содержания цитокинов в сыворотке крови у больных ХГ С в зависимости от активности цитолитических ферментов, (M±SD).*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Больные ХГ С | TGF-β1, пг\мл. | ТИМП-1, нг\мл. |
| АлАТ/АсАТ до 1,5 N. | 434,8±95,7 | 633,1±90,6 |
| АлАТ/АсАТ 1,5-3 N. | 576,8±115,1 | 781,7±150,2 |
| АлАТ/АсАТ 3-5 N. | 683,4±100,1 | 860,5±182,5 |
| Контроль, n=35 | 257,3±58,9 | 458,6±76,3 |
| Значение р | р1-2<0,05  р1-3<0,05  р2-3<0,05  р1-4<0,05  р2-4<0,01  р3-4<0,01 | р1-2<0,05  р1-3<0,05  р2-3<0,05  р1-4<0,05  р2-4<0,01  р3-4<0,01 |

При изучении зависимости между содержанием цитокинов в сыворотке крови и концентрацией цитолитических ферментов у больных ХГ С нами установлены следующие результаты. Выявлена прямая значимая корреляционная взаимосвязь между концентрацией TGF-β1 и ТИМП-1, с одной стороны и уровнем АлАТ/АсАТ, с другой (r=0,61, r=0,58, p<0,01 и r=0,68, r=0,62, p<0,01, соответственно) ***(рис.10,11)***.

Исследование содержания цитокинов в зависимости от других биохимических показателей (билирубина, альбумина, общего белка, ГГТ, ЩФ) у больных ХГ С достоверной связи не обнаружило (p>0,05).



***Рис. 10.*** *Корреляционная зависимость между содержанием АлАТ в сыворотке крови и концентрацией TGF-β1 (пг/мл.), ТИМП-1 (нг/мл.) у больных ХГ С (r=0,61, r=0,68, p<0,01, соответственно).*



**нг/мл**

***Рис. 11.*** *Корреляционная зависимость между содержанием АсАТ в сыворотке крови и концентрацией TGF-β1 (пг/мл.), ТИМП-1 (нг/мл.) у больных ХГ С (r=0,58, r=0,62, p<0,01, соответственно).*

При исследовании зависимости показателей TGF-β1 и ТИМП-1 в сыворотке крови от ПЭ у больных ХГ С установлено, что по мере нарастания их концентраций, стадия фиброза печени по данным фиброэластометрии повышалась.

При сопоставлении уровня цитокинов и стадий фиброза печени, по данным фиброэластометрии, у больных ХГ С установлена статистически значимая связь (р<0,01) между содержанием TGF-β1 и ТИМП-1 в сыворотке крови, с одной стороны, и индексом фиброза, с другой (r=0,78 и r=0,71).

Выявлено, что у больных ХГ С с стадией 0 фиброза печени, по данным фиброэластометрии, и стадией 0-1 уровень TGF-β1 был значимо (р<0,01) снижен по отношению с соответствующим показателем у пациентов с стадиями 2, 3 и 4 (471,4±91,4; 641,8±29,9; 721,4±55,8 и 753,8±89,8 пг/мл, соответственно) **(*рис.12*)**.



**пг/мл**

**р<0,01**

***Рис.12.*** *Корреляционная связь между содержанием TGF-β1 и стадией фиброза у больных ХГ С.*

Аналогичные результаты были получены по содержанию ТИМП-1 в сыворотке крови у исследованных больных в зависимости от стадии фиброза печени по данным фиброэластометрии. При этом наблюдалось, что по мере нарастания стадии фиброза содержание ТИМП-1 также повышалось. Так, у больных ХГ С со стадией фиброза 3-4 уровень ТИМП-1 был значимо (р<0,05) выше по сравнению с таковым у пациентов с фиброзом 0-I и II стадии (915,5±131,6; 985,4±182,3 и 673,6±105,6; 822,1±177,7 и нг/мл, соответственно) ***(рис.13)****.*



**р<0,01**

**нг/мл**

***Рис. 13.*** *Корреляционная связь показателя ТИМП-1 и стадии фиброза у больных ХГ С.*

Сравнительная характеристика сывороточных показателей цитокинов в зависимости от стадии фиброза печени по данным фиброэластометрии показана в *таблице 15.*

***Таблица 15.*** *Содержание цитокинов в сыворотке крови у больных ХГ С в зависимости от стадии фиброза по данным фиброэластометрии, (M±SD).*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Больные ХГ С | TGF-β1, пг\мл. | ТИМП-1, нг\мл. |
| стадия F0-F1 | 471,4±91,4 | 673,6±105,6 |
| стадия F2 | 641,8±29,9 | 822,1±177,7 |
| стадия F3 | 721,4±55,8 | 915,5±131,6 |
| стадия F4 | 753,8±89,8 | 985,4±182,3 |
| Контроль, n=35 | 257,3±58,9 | 458,6±76,3 |
| Значение р | р1-2<0,05  р1-3<0,05  р1-4<0,01  р2-3<0,05  р2-4<0,05  р3-4<0,05  р1-5<0,05  р2-5<0,01  р3-5<0,01  р4-5<0,01 | р1-2<0,05  р1-3<0,01  р1-4<0,01  р2-3<0,05  р2-4<0,01  р3-4<0,05  р1-5<0,05  р2-5<0,01  р3-5<0,01  р4-5<0,01 |

Таким образом, у исследованных больных ХГ С уровни TGF-β1 и ТИМП-1 положительно коррелируют со стадией фиброза по данным фиброэластометрии [85,94,126,135,148,170,171,188,220,229].

Характеристика прогностической ценности сывороточных показателей цитокинов в зависимости от стадии фиброза печени по данным фиброэластометрии представлена в *таблице 15.*

**5.2. Клинический пример №1**

**Больной А.,** 32 года, амбулаторная карта № 112, находился под наблюдением и на лечении в медицинском центре «Гепар» с 23.09.2011 по 01.12.2012 год.

*Клинический диагноз:* Хронический гепатит С (anti-HCV (+), HCV RNA положительный,3а генотип), умеренной биохимической активности, стадия фиброза F2 по шкале METAVIR.

Поступил с жалобами на слабость, утомляемость к концу рабочего дня, тяжесть в правом подреберье, не связанные с приемом пищи.

Из анамнеза: больным себя считает около 5 лет, когда самостоятельно решил обследоваться и в крови были выявлены антитела к ВГ С. Парентеральное потребление наркотиков в 20-летнем возрасте.

Объективно: общее состояние относительно удовлетворительное. Кожные покровы и видимые слизистые оболочки обычной окраски. На коже туловища телеангиэктазии. Склеры субиктеричные. Периферические лимфоузлы не пальпируются. В легких дыхание везикулярное. Тоны сердца ритмичные, несколько приглушены, ЧСС - 82 в мин, АД - 125/75 мм. рт.ст. Язык обложен белым налетом. Живот обычной формы, мягкий, безболезненный во всех отделах. Печень выступает из-под края реберной дуги на 2 см, край плотной консистенции. По Курлову размеры: 14х11х9 см. Селезенка не пальпируется. Симптом «поколачивания» отрицательный с обеих сторон. Стул и диурез в норме.

Данные дополнительных исследований: общий анализ крови: эр - 4,2х1012/л, Hb-132г/л, лейкоциты - 6,2х109/л, тромбоциты - 221х109/л, э - 2, п/я - 3, с/я - 57, л - 36, м - 2, СОЭ - 7 мм/ч. Общий анализ мочи - без патологии. Общий белок - 68 г/л, альбумины - 43,6 г/л, общ. билирубин - 39,8 мкмоль/л, прямой - 18,2 мкмоль/л, АсАТ - 62 Ед/л, АлАТ - 117 Ед/л, ГГТ - 76 Ед/л, ЩФ - 66 Ед/л, ПТИ - 88%, глюкоза крови - 5,4 ммоль/л.

Маркеры гепатитов: anti-HCV IgM (+), IgG(+), HBsAg (-), anti-HBs (-), HCV RNA (+), 3а генотип, вирусная нагрузка 600.000 МЕ/мл.

УЗИ органов брюшной полости: Печень: правая доля - 144 мм, левая - 90 мм, эхогенность повышена. Внутрипеченочные протоки не расширены. Воротная вена - 11 мм, нижняя полая вена - 19 мм, селезеночная вена - 6 мм. Холедох - 6 мм. Желчный пузырь 52х21 мм, стенки до 2 мм, поджелудочная железа: 27х18х17 мм, эхогенность умеренно повышена. Селезенка 102х50 мм, однородная.

Данные фиброэластометрии: показатель эластичности печеночной ткани 8,8 кПа. *Заключение:* соответствуют стадии F2 по шкале METAVIR.

Содержание исследуемых цитокинов в сыворотке крови: TGF-β1 – 584,8 пг/мл, ТИМП-1 – 808,4 нг/мл.

Таким образом, у больного ХГ С с генотипом 3а, с умеренной активностью воспалительного процесса и умеренным фиброзом по данным неинвазивной диагностики фиброза печени (фиброэластометрия), показатели TGF-β1 и ТИМП-1 были значительно повышены по сравнению с соответствующими значениями в группе контроля.

**5.3. Клинический пример №2**

Для иллюстрации приводим еще одно собственное клиническое наблюдение.

**Больная М.,** 53 года, амбулаторная карта № 137, находилась под наблюдением и на лечении в медицинском центре «Гепар» с 10.11.2011 по 04.02.2013 год.

*Клинический диагноз:* Хронический гепатит С (anti-HCV (+), HCV RNA положительный, 1b генотип), умеренной биохимической активности, стадия фиброза F4 по шкале METAVIR.

Поступила с жалобами на общую слабость, быструю утомляемость, тяжесть и боли в правом подреберье, не связанные с приемом пищи.

Из анамнеза: больной себя считает на протяжении 12 лет, когда при плановом обследовании в поликлинике в крови были обнаружены антитела к ВГ С. Переливание крови при родах в 1989 году.

Объективно: общее состояние относительно удовлетворительное. Кожные покровы и видимые слизистые оболочки обычной окраски. На коже туловища телеангиэктазии. Склеры иктеричные. Периферические лимфоузлы не пальпируются. В легких дыхание везикулярное. Тоны сердца ритмичные, несколько приглушены, ЧСС - 88 в мин, АД - 120/70 мм.рт.ст. Язык обложен белым налетом. Живот обычной формы, мягкий, безболезненный во всех отделах. Печень выступает из-под края реберной дуги на 3-3,5 см, край плотной консистенции. По Курлову размеры: 16х12х9 см. Селезенка не пальпируется. Симптом «поколачивания» отрицательный с обеих сторон. Стул и диурез в норме.

Данные дополнительных исследований: общий анализ крови: эр –3,9х1012/л, Hb-114 г/л, лейкоциты - 5,2х109/л тромбоциты - 174х109/л, э - 1, п/я - 4, с/я - 52, л - 39, м - 4, СОЭ - 11 мм/ч. Общий анализ мочи - без патологии. Общий белок - 64 г/л, альбумины - 39,8 г/л, общ. билирубин - 41,8 мкмоль/л, прямой –16,3 мкмоль/л, АсАТ – 68 Ед/л, АлАТ – 124 Ед/л, ГГТ – 70 Ед/л, ЩФ – 82 Ед/л, ПТИ - 82%, глюкоза крови –4,8 ммоль/л.

Маркеры гепатитов: anti-HCV IgM (+), IgG(+), HBsAg (-), anti-HBs (-), HCV RNA (+), 1b генотип, вирусная нагрузка 450.000 МЕ/мл.

УЗИ органов брюшной полости: Печень: правая доля - 162 мм, левая - 102 мм, эхогенность повышена. Внутрипеченочные протоки не расширены. Воротная вена - 12 мм, нижняя полая вена - 20 мм, селезеночная вена - 6 мм. Холедох–5 мм. Желчный пузырь 48х20 мм, стенки до 2 мм, поджелудочная железа: 29х18х21 мм, эхогенность умеренно повышена. Селезенка 98х52 мм, однородная.

Данные фиброэластометрии: показатель эластичности печеночной ткани 22,6 кПа. *Заключение:* соответствуют стадии F4 по шкале METAVIR.

Содержание исследуемых цитокинов в сыворотке крови: TGF-β1– 872,4 пг/мл, ТИМП-1 – 1094,8 нг/мл.

Таким образом, у больной ХГ С с генотипом 1b, умеренной активностью воспалительного процесса и фиброзом 4 стадии (шкала METAVIR) по результатам фиброэластометрии печени, показатели TGF-β1 и ТИМП-1 были значительно повышены по сравнению с соответствующими показателями в группе контроля.

**ГЛАВА VI**

**ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЦИТОКИНОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ХГ С ПегИНФ-α-2а И РИБАВИРИНОМ**

После установления клинического диагноза 80 больным ХГ С была назначена терапия ПегИНФ-α-2a в дозе 180 мкг 1 раз в неделю подкожно в сочетании с рибавирином. При вирусологическом исследовании у всех больных ХГ С в крови обнаружена HCV RNA, у 49 (61,3%) больных ХГ С выявлен 1-й генотип, у 7 (8,8%) пациентов 2-й генотип и 3-й генотип у 24 (30,0%) больных ХГ С. При изучении количественного анализа HCV RNA высокая вирусная нагрузка (>800.000 МЕ/мл) обнаружена у 35 (43,8%) и низкая (<800.000 МЕ/мл) у 45 (56,2%) больных ХГ С *(таблица 16)*.

***Таблица 16.*** *Вирусная нагрузка у больных ХГ С в зависимоти от генотипа ВГ С.*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Генотип | Высокая (n=35)  >800.000 МЕ/мл | Низкая (n=45)  <800.000 МЕ/мл |
| 1-й генотип (n=49) | 24 | 25 |
| 2-й генотип (n=7) | 3 | 4 |
| 3-й генотип (n=24) | 8 | 16 |

Больным ХГ С 1 генотипом (49 больных) терапия была назначена продолжительностью 48 недель и доза рибавирина составила 1000/1200 мг в сутки (в зависимости от веса тела), пациентам 2 и 3 генотипами (31 больных) - 24 недель с суточной дозой рибавирина 800 мг.

Группа сравнения была составлена из 45 больных ХГ С без лечения противовирусными препаратами и с сопоставимыми клинико-лабораторными признаками *(таблица 17)*.

В течение 24 недель наблюдения данные пациенты получали лишь симптоматическую терапию, включающую витамины, дезинтоксикационные препараты и др. За период наблюдения у пациентов группы сравнения сохранились астенический синдром, повышенная активность цитолитических ферментов, положительными оставались маркеры ВГС (HCV RNA).

***Таблица 17.*** *Основные лабораторные показатели у больных ХГ С до лечения, получавших комбинированное лечение и в группе сравнения.*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показатели | Группа  лечения (n=80) | Группа  сравнения (n=45) |
| Общий белок, г/л | 71,8±1,5 | 72,8±2,1 |
| Альбумин, г/л | 42,1±1,4 | 43,8±1,4 |
| Общий билирубин, мкмоль/л | 22,8±3,5 | 21,6±1,9 |
| Прямой билирубин, мкмоль/л | 10,2±1,8 | 10,7±1,4 |
| ПИ, % | 88,4±2,7 | 90,2±3,2 |
| АСТ, МЕ | 74,1±28,6 | 71,3±31,2 |
| АЛТ, МЕ | 81,2±33,8 | 79,4±29,2 |
| ЩФ, Ед/л | 143,8±16,7 | 139,1±14,2 |
| ГГТ, МЕ | 46,5±6,1 | 43,8± 5,7 |

При лечении больных ХГ С возникали нежелательные явления *(таблица 18)*, однако, частота их встречаемости не превышала среднестатистические показатели. Почти во всех случаях возникал гриппоподобный синдром, обычно он исчезал через 3-5 недели. Снижение уровня нейтрофилов на 4-8 неделе отмечалось у 29 больных, но на 12 неделе у всех уровень нормализовался. Количество тромбоцитов снижалось у 21 больных до 130х109/л. Снижение гемоглобина более чем на 20 г/л отмечено у 35 больного, но дозу рибавирина не пришлось снижать ни у одного. Депрессивный синдром легкой степени выраженности наблюдался у 56 больных, который проходил после беседы с пациентами. Выраженный депрессивный синдром у 1 пациента на 20 неделе лечения послужил причиной отмены терапии, и исследуемый был исключен из исследования. У 6 пациентов на 20 неделе лечения отмечалось выпадение волос, которое восстановилось после успешного лечения в периоде наблюдения. Все пациенты за время терапии потеряли в весе, но не более 10% от исходной массы. В 4-х случаях наблюдались проявления аутоиммунного тиреоидита с гипофункцией щитовидной железы. Адекватная заместительная терапия позволила завершить терапию противовирусными препаратами. Вследствие нарушения режима лечения 4 больных были также исключены из исследования.

***Таблица 18.*** *Перечень побочных явлений в группе лечения (n=80), получающих патогенетическую терапию.*

|  |  |
| --- | --- |
| Симптомы | Частота случаев |
| Гриппоподобный синдром | 71 (88,8%) |
| Нейтропения | 29 (36,3%) |
| Тромбоцитопения | 21 (26,3%) |
| Снижение гемоглобина > 20 г/л | 35 (43,8%) |
| Депрессия | 56 (70,0%) |
| Выпадение волос | 6 (7,5%) |
| Снижение веса <10% от исходной массы | 80 (100%) |
| Аутоиммунный тиреоидит | 4 (5,0%) |
| Комплаентность к терапии | 4 (5,0%) |

Эффективность терапии оценивали на 12-й и 24-й неделе лечения. Исчезновение HCV RNA и/или снижение исходной вирусной нагрузки на >2log на 12-й неделе расценивалось как ранний вирусологический ответ у больных генотипом 2, 3 и на 24-й неделе у больных с 1-м генотипом. После 24 недель терапии, в случаях полного ответа (нормальный уровень АлАТ и отсутствие HCV RNA), в случае с пациентами 2 и 3 генотипа, констатировали положительный ответ и излечение, после чего прекращали терапию. Больным с 1-м генотипом лечение продолжали до 48 недель. При отсутствии ответа у больных 2-м и 3-м генотипами на 12 неделе и 1-м генотипом на 24 неделе, противовирусную терапию прекращали. У 4-х пациентов с 1-м генотипом на фоне нормализации ферментов печени уровень HCV RNA в сыворотке крови сохранялся на 24 неделе, что явилось причиной отмены дальнейшей терапии и исключения из исследования.

У 71 пациента (1-й генотип – 42, 2-й – 3, 3-й – 26), продолжившего лечение, наблюдалась положительная клинико-лабораторная динамика, свидетельствующая об эффективности проводимой терапии: исчезновение или уменьшение выраженности астенических явлений, нормализация активности сывороточных трансаминаз, элиминация HCV RNA.

Через 24 недели после завершенной противовирусной терапии пациентам, для определения устойчивого вирусологического ответа (УВО), повторно проводили иммунологические и ПЦР-исследования крови (anti HCV, качественный и количественный тест на ВГ С). Как видно из *таблицы 19,* и у больных с генотипом 1, и в группе больных со 2 и 3 генотипом был достигнут УВО в 22 (52,4% и 75,9%, соответственно) случаях.

***Таблица 19.*** *Частота УВО в зависимости от генотипа ВГ С у больных, включенных в исследование (n=71).*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Генотип | Случай УВО | % |
| 1-й генотип | 22 | 52,4 |
| 2-й генотип | 2 | 66,7 |
| 3-й генотип | 20 | 76,9 |

Спустя 24 недели от начала терапии наблюдалось значимое снижение уровней общего билирубина, АлАТ, АсАТ *(таблица 20)*.

***Таблица 20.*** *Динамика лабораторных показателей у больных ХГ С в процессе эффективной противовирусной терапии (n=71.)*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показатель | До  начала терапии | Спустя  24 недель | p |
| Общий белок, г/л | 72,1±1,6 | 75,2±1,6 | 0,10 |
| Альбумин, г/л | 41,9±1,5 | 44,5±2,2 | 0,08 |
| Общий билирубин, мкмоль/л | 23,4±3,6 | 13,0±3,2 | 0,003 |
| АСТ, МЕ | 75,2±31,2 | 24,2±14,4 | 0,001 |
| АЛТ, МЕ | 84,3±32,4 | 29,3±18,2 | 0,001 |
| ГГТ, МЕ | 47,1±6,2 | 36,2± 4,6 | 0,08 |
| ЩФ, Ед/л | 143,5±16,6 | 109,5 ±11,4 | 0,07 |

Клинико-лабораторные показатели и содержание цитокинов в сыворотке крови у больных ХГ С, получавших противовирусное лечение, оценивали перед началом терапии, на 24-й (всем пациентам) и 48-й (пациентам с 1-м генотипом) неделе т.е. при завершении терапии. В группе сравнения клинико-лабораторная оценка и исследование концентрации цитокинов в сыворотке проводились в начале срока наблюдения и спустя 24 недели.

**6.1. Динамика показателей цитокинов**

**при лечении больных ХГ С ПегИНФ-α-2а и рибавирином**

Содержание уровня TGF-β1 и ТИМП-1 у больных ХГ С на фоне противовирусной терапии показано в *таблице 21*.

***Таблица 21.*** *Параметры цитокинов у больных ХГ С до и после противовирусного лечения, (M±SD).*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Группа обследованных** | **TGF-β1 (пг/мл)** | **ТИМП-1 (нг/мл)** |
| ХГ С до лечения (n=80) | 672,2±127,2 | 754,8±156,2 |
| ХГ С спустя 12 недель (n=71) | 482,2±118,3 | 720,5±134,8 |
| ХГ С спустя 24 недель (n=71) | 318,8±82,5 | 540,8±144,8 |
| Контроль (n=35) | 257,3±58,9 | 458,6±76,3 |
| Значение р | *р1-2<0,05*  *р1-3<0,01*  *р1-4<0,01*  *р2-4<0,05*  *р3-4>0,05* | *р1-2>0,05*  *р1-3<0,05*  *р1-4<0,01*  *р2-4<0,05*  *р3-4>0,05* |

Как видно из *таблицы 21*, показатели TGF-β1 и ТИМП-1 у больных ХГ С до начала противовирусного лечения были значимо (р<0,01) повышены по сравнению с соответствующими показателями у здоровых лиц. На фоне эффективного противовирусного лечения спустя 12 недель уровень содержания TGF-β1 и ТИМП-1 значительно снизился по сравнению с соответствующими показателями до начала терапии (р<0,01 и р<0,05, соответственно). Уровень TGF-β1 и ТИМП-1 через 24 недели лечения достоверно (p<0,01 и p<0,05, соответственно) снизился по сравнению с их значениями до начала лечения и не отличался от контрольных показателей ***(рис.14)***.

**р<0,01**

**р<0,05**

***Рис. 14.*** *Динамика показателей исследуемых цитокинов на фоне эффективного противовирусного лечения больных ХГ С (p<0,05 по сравнению с больными до начала и спустя 12-24 недель лечения).*

p<0,05

Содержание показателей TGF-β1 и ТИМП-1 у больных в группе сравнения представлено в *таблице 22.* Как видно, средние значения TGF-β1 и ТИМП-1 у больных ХГ С, получавшие дезинтоксикационную терапию без проведения противовирусного лечения существенно не изменялись в процессе наблюдения. Показатели TGF-β1 и ТИМП-1 в сыворотке крови спустя 24 недели сохранялись значительно (p<0,01 и p<0,05, соответственно) повышенными по сравнению с таковыми в группе контроля.

Таким образом, эффективная противовирусная терапия ПегИНФ-α-2а в сочетании с рибавирином больных ХГ С сопровождается снижением показателей цитокинового профиля, а именно, достоверным уменьшением TGF-β1 и ТИМП-1 в сыворотке крови. Полученные результаты указывают на противофиброгенные свойства ИНФ-α-2а и рибавирина [*22,24,51,43, 103,120,128,131*].

***Таблица 22.*** *Параметры цитокинов у больных ХГ С, не получавших противовирусного лечения спустя 24 недель (M±SD).*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Группа обследованных** | **TGF-β1 (пг/мл)** | **ТИМП-1 (нг/мл)** |
| ХГ С (n=45) | 627,3±142,4 | 774,2±196,2 |
| ХГ С спустя 24 недель (n=45) | 612,8±138,2 | 742,6±184,1 |
| Контроль (n=35) | 257,3±58,9 | 458,6±76,3 |
| Значение р | *p1-2>0,05*  *p1-3<0,01*  *p2-3<0,01* | *p1-2>0,05*  *p1-3<0,05*  *p2-3<0,05* |

**6.2. Оценка результатов фиброэластометрии**

**при лечении больных ХГ С ПегИНФ-α-2а и рибавирином**

Анализ показателей эластичности печеночной ткани до и после противовирусной терапии указано в *таблице 23.* Спустя 24 недели эффективного комбинированного лечения средние ПЭ печеночной ткани в группе лечения незначительно снизились и достоверно не отличались (p>0,05) от соответствующих показателей до начала лечения.

При анализе данных фиброэластометрии в группе сравнения, получившей дезинтоксикационную терапию, отмечалась несколько иная картина, т.е. незначительное нарастание показателей фиброза (p>0,05).

***Таблица 23.*** *Сравнительный анализ показателей эластичности (ПЭ) печеночной ткани у больных группы лечения и сравнения ХГ С в динамике противовирусной терапии (M±SD).*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Индекс фиброза** | **До**  **лечения, кПА** | **После 24 недель лечения, кПа** | **p** |
| Группа лечения (n=80): | 8,3±0,78 | 7,8±0,62 | >0,05 |
| *стадия F0(n=32)* | *5,3±0,37* | *5,1±0,44* | *>0,05* |
| *стадия F1 (n=25)* | *7,0±0,74* | *6,5±0,64* | *>0,05* |
| *стадия F2(n=14)* | *9,8±0,92* | *9,2±0,78* | *>0,05* |
| *стадия F3(n=7)* | *12,5±1,72* | *11,7±1,45* | *>0,05* |
| *стадия F4(n=2)* | *24,8±1,7* | *23,7±1,4* | *>0,05* |
| Группа сравнения (n=45) | 8,2±0,95 | 8,8±1,45 | >0,05 |

Таким образом, комбинированная терапия ПегИНФ-α-2а и рибавирином больных ХГ С, сопровождалась незначительным снижением повышенных показателей эластичности печеночной ткани в группе лечения по данным фиброэластометрии в сравнении с показателями до начала лечения, однако, достоверной связи не установлено. Динамическое наблюдение за пациентами ХГ С без противовирусного лечения, за период наблюдения (24 недели), характеризовалось недостоверным увеличением среднего показателя фиброэластометрии группы сравнения.

**6.3. Клинический случай №1**

Для иллюстрации приводим клиническое наблюдение.

**Больной М.,** 43 лет, амбулаторная карта № 96, находился под наблюдением в Медицинском центре «ГЕПАР» с 09.09.11г. по 02.03.12г.

*Клинический диагноз:* Хронический гепатит С (HCV RNA положит., 1b генотип) с умеренной биохимической активностью, стадия фиброза F1 по METAVIR.

Обратился с жалобами на общую слабость, быструю утомляемость, тяжесть в правом подреберье, повышение температуры до 37,2ºС. Из анамнеза: больным себя считает с 2009 года, когда стал отмечать вышеперечисленные жалобы. Связывал это с переутомлением, однако, через 6 месяцев обследовался, в крови были обнаружены антитела к ВГ С и повышение ферментов печени. До момента обращения этиопатогенетическое лечение не проводил. Соблюдал диету, принимал редкими курсами карсил, эссенциале.

Объективно: состояние относительно удовлетворительное. Кожные покровы и видимые слизистые оболочки обычной окраски. На коже туловища телеангиэктазии. Склеры субиктеричные. Периферические лимфоузлы не увеличены. В легких дыхание везикулярное. Тоны сердца ритмичные, ясные. ЧСС - 86 в мин., АД - 120/80 мм.рт.ст. Язык обложен белесоватым налетом. Живот обычной формы, мягкий, безболезненный во всех отделах. Печень выступает из-под края реберной дуги на 2,0-3,0 см, край плотной консистенции. По Курлову размеры: 14х11х9 см. Селезенка не увеличена. Симптом «поколачивания» отрицательный с обеих сторон. Стул и диурез в норме.

Данные дополнительных исследований: общий анализ крови: эр - 4,4х1012/л, Hb - 122г/л, лейкоциты – 5.8- х109/л, тромбоциты - 243х109/л, э - 2, п/я - 3, с/я - 65, л - 27, м - 3, СОЭ - 10 мм/ч. Общий анализ мочи – без патологии. Общий белок – 72 г/л, альбумины - 44,2 г/л, общ. билирубин - 23,7 мкмоль/л, прямой - 7,2 мкмоль/л, АсАТ - 72 Ед/л, АлАТ - 104 Ед/л, ГГТ - 53 Ед/л, ЩФ - 94 Ед/л, ПТИ - 92%, глюкоза крови – 4,8 ммоль/л.

Маркеры гепатитов: anti-HCV IgM(+), IgG(+), HBsAg(-), anti-HBs(-), HCV RNA (+), 1b генотип, вирусная нагрузка 1.200.000 МЕ/мл.

УЗИ органов брюшной полости: Печень: правая доля - 152 мм, левая - 95 мм, эхогенность повышена. Внутрипеченочные протоки не расширены. Воротная вена - 11 мм, селезеночная - 6,0 мм. Холедох - 6,7 мм. Желчный пузырь: 52х30 мм, стенки несколько уплотнены. Поджелудочная железа: 28х16х17 мм, эхогенность обычная. Селезенка: 112х46 мм, обычная.

Данные фиброэластометрии: показатель эластичности печеночной ткани 7,8 кПа. *Заключение:* соответствуют F1 стадии по шкале METAVIR.

Заключение: Хронический гепатит С. Индекс фиброза F1 (по шкале METAVIR).

Информированное согласие на проведение противовирусной терапии получено. Была начата терапия ПегИНФα-2а в дозе 180 мкг. 1 раз в неделю п/к. в сочетании с рибавирином в суточной дозе 1200 мг. (рост 176 см., вес 82 кг). Спустя 12 недель лечения активность АлАТ и АсАТ нормализовалась, вирусная нагрузка снизилась до <1000 МЕ/мл. После 24 недель терапии HCV RNA в сыворотке крови не определялась. Лечение противовирусными препаратами было продолжено до 48 недель и, в последующем, завершено.

За время проводимой терапии у пациента на 2-й неделе лечения отмечался гриппоподобный синдром, симптоматика которого исчезла через 3 недели. На 7-й неделе лечения незначительная лейкопения, однако, доза ПегИНФ-α-2а не снижалась. За время проводимой терапии пациент похудел на 5 кг. Остальных вышеописанных побочных эффектов интерферронотерапии не отмечалось.

Содержание цитокинов в сыворотке крови и показателя эластичности печеночной ткани по результатам фиброэластометрии до начала лечения и спустя 24 недели после лечения указано в *таблице 24*.

***Таблица 24.*** *Сравнительный анализ исследованных показателей у больного ХГ С в динамике противовирусной терапии.*

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | АлАТ  ед/л | АсАТ  ед/л | Об.билир.  мкмоль/л | TGF-β1 (пг/мл) | ТИМП-1 (нг/мл) | Индекс ПЭ (кПа) |
| До лечения | 104 | 72 | 23,7 | 638,7 | 841,9 | 10,4 |
| Через  24 нед. | 31 | 28 | 15,2 | 338,4 | 528,2 | 9,9 |

Таким образом, исчезновение репликации ВГ С и нормализация ферментов печени на 24 неделе лечения больной ХГ С с генотипом 1b ПегИНФ-α-2а и рибавирином, сопровождалось значительным снижением показателей TGF-β1 и ТИМП-1 в сыворотке крови и незначительным уменьшением индекса эластичности печеночной ткани (по шкале METAVIR) по результатам повторной фиброэластометрии печени.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Вирус гепатита С (HCV) – это ведущая причина заболеваний печени во всем мире. По данным ВОЗ, в мире HCV инфицированы 123 млн. человек, или 2% населения [241].

Механизмы прогрессирования хронических диффузных заболеваний печени вирусной этиологии до цирроза печени продолжают привлекать внимание исследователей. На сегодняшний день, часть исследователей связывают развитие фиброза с нарушением репарации стромы и гепатоцитов в участках повреждения портальных трактов и паренхимы печени, другие авторы считают, что связано это с развитием иммунного воспаления [81,86,94,139,145].

На современном этапе проводятся многочисленные работы, в которых изучаются отдельные аспекты процессов фиброза печени, где нарушению соотношения про- и противовоспалительных цитокинов, баланса ММП и активности ТИМП отводится пристальное внимание [2,9,25,39,51,77].

Однако, полученные результаты зачастую противоречивы [45,39,157, 186].

Отсутствие единых взглядов на патогенез ХГ С приводит к невозможности создания высокоэффективных методов терапии, что отрицательно влияет на продолжительность жизни больных и определяет высокий уровень смертности. В результате прогрессирования ХГ С у значительного числа инфицированных HCV, обычно в возрасте 20-40 лет, развивается прогрессирующий фиброз с исходом в цирроз печени, на последних стадиях сопровождающийся развитием осложнений цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы [90,134,220,226,246].

Комплексного изучения морфологических особенностей и механизмов регуляции процессов клеточной дифференцировки, пролиферации, апоптоза и фиброза при ХГ С не проводилось. Однако, по результатам исследований, в которых изучались отдельные аспекты патогенеза ХГ С, увеличение продукции профибротических цитокинов - мощного стимулятора роста, вырабатываемого макрофагами, TGF-β1 [1], продуцирующийся в избыточном количестве и регулирующий синтез внеклеточного матрикса (ВКМ), а также нарушение баланса ММП, являются одними из ключевых звеньев развития фиброза печени [126,148,170,171].

В отдельных исследованиях также имеются упоминания о том, что данный цитокин, блокируя воспалительную реакцию, одновременно стимулирует синтез коллагена и обеспечивает ремоделирование внеклеточного матрикса [188].

Специфические тканевые ингибиторы ММП (ТИМП), среди которых наибольшее значение имеет ТИМП 1, непосредственно регулируют активность ММП [39,97,186].

Согласно гипотезе, которую выдвинули A. Geerts (2001) и G.Ramadori (2002), что ключевыми фиброгенными клетками, секретирующими ТИМП и коллаген, являются звездчатые клетки Ито, которые экспрессируют маркерный белок гладкомышечных клеток и миофибробластов α-SMA.

В свою очередь, M.G. Bachem (1998) и R. Bataller (2005) высказали предположение, что прогрессирование ФП должно сопровождаться повышением уровня экспрессии гена α-SMA. При хроническом повреждении печеночной ткани и стадии формирования её фиброза замедляются процессы разрушения ЭМ, что связано с нарушенным балансом между уровнем экспрессии металлопротеиназ и их ТИМП [81,85,142,150].

В настоящее время наряду с биопсией печени, в клинической практике достаточно широко применяются методы неинвазивной диагностики ФП, одним из которых является фиброэластометрия. Данный метод исследования, опираясь на опыт ранее проведенных исследований, зарекомендовал себя как альтернативу «золотому стандарту» диагностики фиброза – биопсии печени. Фиброэластометрия позволяет проводить многократные наблюдения для оценки динамики патологического процесса, в том числе и на фоне терапии [11,43,200,239].

Изучение особенностей клеточной пролиферации и фиброгенеза в печеночной ткани у больных ХГ С вместе с оценкой уровня медиаторов в сыворотке крови (TGF-β1, ТИМП-1) позволит значительно расширить наши знания в отношении медиаторов, регулирующих фиброгенез и понять механизмы продукции ЭМ [81,86,94,98,127,137].

С учетом неоднозначности трактовки про- и антифиброгенных факторов у больных ХГ С по литературным данным, мы решили посвятить свою работу изучению данной проблемы.

В общую группу исследования было включено 150 больных ХГ С в возрасте от 19 до 59 лет. После проведенных запланированных исследований из общей группы были сформировнаны 2 группы:

* группа лечения (n=80), получившую противовирусную терапию ПегИНФ-α-2а и рибавирином;
* группа сравнения (n=45), которым была проведена дезинтоксикационная терапия.

Контрольную группу составили 35 практически здоровых лиц.

Диагноз ХГ С устанавливали на основании комплексного анализа данных физикального обследования, результатов лабораторных и инструментальных исследований.

Пациенты предъявляли жалобы на вялость, слабость, быструю утомляемость, снижение трудоспособности, неинтенсивные ноющие боли в правом подреберье, не связанные с приемом пищи; периодически - желтушное окрашивание склер. Симптомы, выявленные при физикальном обследовании, включали: желтуху различной степени выраженности, гепато- и спленомегалию, болезненность печени при пальпации.

При исследовании биохимических показателей крови у большинства больных ХГ С выявлено повышение только содержания АлАТ, АсАТ и общего билирубина. При сравнительном изучении цитолитических ферментов было установлено, что активность трансаминаз была практически нормальной (повышение до 1,5 норм) у 49 (32,7%) больных, незначительно (1,5-3 норм) повышенной у 54 (36,0%) и умеренной (3-5 норм) у 47 (31,3%) пациентов.

В исследование включались больные, у которых в крови выявлялись антитела класса IgG к ВГ С (anti-HCV+). У всех (100%) больных при обследовании в сыворотке крови обнаружена HCV RNA (признак репликации HCV). При определении генотипов ВГ С установлено, что 1 генотип встречался у 98 (65,3%) пациентов, 2-й у 15 (10,0%) и 3-й генотип – у 37 (24,7%). У 80 больных ХГ С, которые получали противовирусную терапию, была изучена вирусная нагрузка. Высокая вирусная нагрузка – более 800.000 МЕ/мл наблюдалась у 33 (41,3%) пациентов, а у 47 (58,7%) низкая вирусная нагрузка – менее 800.000 МЕ/мл.

Таким образом, полученные нами клинико-лабораторные показатели больных ХГ С не противоречат данным литературы [2,9,39,45,77,157,186].

Фиброэластометрия была проведена всем 150 пациентам с ХГ С в возрасте от 19 до 59 лет (средний возраст 36,7±9,2 лет). Из них у 52 (34,7%) больных выявлена 0 стадия (средний показатель эластичности (ПЭ) 5,3±0,58 кПа), у 38 (25,3%) – 1-я стадия (средний ПЭ 7,3±0,55 кПа), у 22 (14,7%) – 2-я стадия (средний ПЭ 9,6±0,62 кПа), у 18 (12,0%) – 3-я стадия (средний ПЭ 15,2±2,4 кПа) и у 20 (13,3%) – 4-я стадия фиброза по шкале METAVIR (средний ПЭ 23,7±1,7 кПа).

При изучении корреляционных связей среднего ПЭ печеночной ткани в зависимости от выраженности клинических проявлений заболевания (длительность заболевания, астенический синдром, гепатомегалия) нами установлено достоверное его повышение по мере нарастания длительности анамнеза заболевания (r=0,84; p<0,05), что и подтверждается литературными данными [40,49,53]. При изучении возможных взаимосвязей с выраженностью астенического синдрома и степени увеличения размеров печени, с одной стороны, и ПЭ, с другой, прослеживалась слабая корреляционная связь, однако, достоверной связи не выявлено (r=0,28 и r=0,22; р>0,05, соответственно).

Проведенный сравнительный анализ среднего ПЭ печеночной ткани у больных ХГ С в зависимости от активности АлАТ\АсАТ показал прямую корреляционную взаимосвязь между ПЭ, с одной стороны, и уровнем АсАТ/АлАТ, с другой (r=0,36, p>0,05 и r=0,44, p>0,05, соответственно), однако, достоверной связи при этом не наблюдалась.

Исследование уровня цитокинов TGF-β1 в сыворотке крови проведено 150 больным ХГ С. При этом установлено, что содержание TGF-β1 было повышено у 103 (68,7%) больных, понижено у 20 (13,3%) и соответствовало показателям здоровых лиц у 27 (18,0%) больных ХГ С.

У 114 (76,0%) больных уровень ТИМП-1 был повышен, у 17 (11,3%) был понижен и у 19 (12,7%) пациентов не отличался от такового значения контрольной группы.

Средние значения TGF-β1 и ТИМП-1 были достоверно (p<0,01; p<0,01, соответственно) повышены от соответствующих показателей в группе контроля. Полученные результаты свидетельствуют об увеличении концентрации профиброгенных факторов в сыворотке крови у больных ХГ С, что соответствует многочисленным литературным данным [126,148,170,171].

Тем самым, подтверждается роль исследованных цитокинов в деградации ВКМ, особенно его фибриллярных белков, где ключевую роль играют особые ферменты – ММП. Активность металлопротеиназ подавляется ТИМП. Ключевыми фиброгенными клетками, секретирующими ТИМП и синтезирующими коллаген, являются звездчатые клетки Ито. При хроническом повреждении печеночной ткани замедляются процессы разрушения экстрацеллюлярного матрикса, что связано с нарушенным балансом между уровнем экспрессии металлопротеаз и их ТИМП [81,85,142,150].

При изучении взаимосвязей между уровнем цитокинов и клиническими особенностями больных ХГ С нами установлены положительные корреляции с длительностью заболевания, выраженностью астенического синдрома, размерами увеличения печени, однако, достоверная взаимосвязь между исследуемыми показателями не прослеживалась.

Учитывая, что у данного контингента больных выявлена повышенная концентрация TGF-β1 и ТИМП-1 по сравнению с контролем, можно предположить, что данные цитокины, за счет плейотропных эффектов, играют определенную роль в развитии таких проявлений заболевания, как слабость, утомляемость, похудание, субфебрильная лихорадка и др. Подобные предположения высказываются и другими авторами [21,72,186].

Проявления лихорадки, астенического синдрома при заболеваниях печени не всегда связаны со степенью биохимической активности гепатита [23,67]. Учитывая полученные нами результаты повышения цитокинов у пациентов с ХГ С, можно предположить, что такие клинические проявления заболевания, как лихорадка, астенический синдром могут быть обусловлены и центральными и периферическими эффектами цитокинов [21,72,186].

При изучении зависимости между содержанием цитокинов в сыворотке крови и концентрацией цитолитических ферментов у больных ХГ С нами выявлена достоверная и прямая корреляционная взаимосвязь между концентрацией TGF-β1 и ТИМП-1, с одной стороны, с уровнем АсАТ/АлАТ, с другой.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что в механизмах повреждения печени при ХГ С значительную роль играют клетки иммунной системы и продуцируемые ими цитокины.

Достоверно повышенные показатели TGF-β1, как одного из важнейших противовоспалительных цитокинов у больных ХГ С, могут отражать как слабую противовирусную активность основных медиаторов воспаления, обусловленных, вероятно, непосредственным подавлением TGF-β1 экспрессии генов цитокинов ИЛ-1, ФНО-α, так и индукцию синтеза растворимых рецепторов к ним [126]. Повышенный уровень данного цитокина в условиях персистенции ВГ С, по видимому, не обеспечивает противовирусную защиту, что в свою очередь может быть обусловлено секрецией растворимых рецепторов, связывающих ФНО-α [103].

Полученные нами результаты о наличии положительной корреляции между уровнем ТИМП-1 и активностью цитолитических ферментов, свидетельствуют о роли ТИМП-1 не только в синтезе фиброзной ткани, но и в разрушении матрикса [146].

Наличие значимой связи между уровнем TGF-β1 и ТИМП-1 с одной стороны, а также стадией фиброза, с другой, по результатам нашего исследования (r=0,78, р<0,01; r=0,71, р<0,01, соответственно) подтверждают профиброгенные свойства исследованных цитокинов [126,148,170,171].

Таким образом, мы подтвердили, что, помимо противовоспалительной активности, TGF-β1 является мощным профиброгенным фактором. Установленная нами корреляционная связь уровня TGF-β1 с индексом фиброза по данным фиброэластометрии указывает, что данный цитокин, блокируя воспалительную реакцию, одновременно стимулирует синтез коллагена и обеспечивает ремоделирование внеклеточного матрикса [85,94,135,188,220].

Сохраняющаяся экспрессия ТИМП-1 считается основной причиной прогрессирования фиброза. Для нормального протекания процессов реорганизации ВКМ необходимо сохранение равновесия между активностью металлопротеиназ и их ингибиторов [47,62]. Среди ингибиторов важную роль играет ТИМП-1, центральную роль в продукции в печени которых играют ЗК [93,157,186,188], вызывающие снижение активности протеаз и способствующие накоплению матрикса.

Следовательно, достоверно высокие показатели ТИМП-1 в сыворотке крови у больных ХГ С и наличие положительных корреляций его со стадией фиброза печени по данным фиброэластометрии в проведенном нами исследовании демонстрирует нарушение равновесия в реорганизации внеклеточного матрикса в сторону ингибиторов металлопротеиназ. Полученные нами результаты соответствуют данным литературы, что уровень ТИМП-1 в сыворотке крови может рассматриваться для подтверждения наличия фиброза печени, в том числе и при ХГ С [229].

После установления клинического диагноза 80 больным ХГ С была назначена терапия ПегИНФ-α-2a в дозе 180 мкг 1 раз в неделю подкожно в сочетании с рибавирином. Больным ХГ С с 1-м генотипом (49 больных) терапия была проведена продолжительностью 48 недель и доза рибавирина составила 1000 и 1200 мг/сут (в зависимости от веса тела), пациентам со 2-м и 3-м генотипами (31 больных) - 24 недель с суточной дозой рибавирина 800 мг. Группа сравнения была составлена из 45 больных ХГ С без лечения противовирусными препаратами и с сопоставимыми клинико-лабораторными признаками.

У 71 пациента (1-й генотип – 42, 2-й – 3, 3-й – 26) продолжавшего лечение, наблюдалась положительная клинико-лабораторная динамика, свидетельствующая об эффективности проводимой терапии: исчезновение или уменьшение выраженности астенических явлений, нормализация активности сывороточных трансаминаз, элиминация HCV RNA.

Через 24 недели, после окончания противовирусной терапии, и у больных с генотипом 1, и в группе больных со 2 и 3 генотипом был достигнут УВО в 22 (52,4% и 75,9%, соответственно) случаях.

На фоне эффективного противовирусного лечения спустя 24 недели содержание TGF-β1 и ТИМП-1 в сыворотке крови достоверно снизилось по отношению к соответствующим показателям до начала терапии и не отличалось от таковых в группе контроля.

У пациентов группы сравнения спустя 24 недели наблюдения существенных изменений в параметрах цитокинов по сравнению с исходными показателями установлено не было.

Таким образом, эффективная противовирусная терапия сопровождалась изменением цитокинового профиля у больных ХГ С. При этом, наблюдалось значительное снижение уровня TGF-β1 и ТИМП-1, что не противоречит данным литературы [43]. Уменьшение продукции TGF-β1 при комбинированной противовирусной терапии демонстрирует повышение противовирусной активности основных медиаторов воспаления, т.е. преодоление подавления противовоспалительного действия TGF-β1 клеточным иммунитетом и активацию цитотоксических Т-клеток (ЦТЛ) в ткани печени под действием ИНФ-α и рибавирина [24,51,103,120]. Вероятно, этим механизмом объясняется потенцирование действия ИНФ-α с помощью рибавирина при лечении больных ХГ С [22,128,131].

Таким образом, полученные нами результаты согласуются с данными литературы, что показатели цитокиновой системы, изученные в настоящем исследовании, участвуют в иммунопатогенезе хронической инфекции ВГ С, играя ключевую роль в процессах фиброгенеза. Сывороточные показатели TGF-β1 и ТИМП-1 имеют достоверную связь с основными клиническими параметрами, характеризующими активность ХГ С. Повышение содержания TGF-β1 и ТИМП-1 в сыворотке крови, вероятно, является неблагоприятным фактором, принимающим участие в механизмах повреждения и прогрессирования фиброза печени при ХГ С.

Снижение показателей цитокиновой системы в сыворотке крови у больных ХГ С свидетельствует об активном участии иммунных реакций в механизмах противовирусной защиты. Но в условиях персистенции ВГ С, механизмы нормальной регуляции иммунной системы сменяются повреждающей, которая, в свою очередь, способствуют прогрессированию фиброза печени [81,86,94,98,127,137,148,170,171].

Применение ПегИНФ-α-2а в сочетании с рибавирином способствует значительному снижению концентраций исследованных цитокинов, что служит прогностическим признаком хорошего ответа на противовирусную терапию больных ХГ С.

**ВЫВОДЫ**

1. Оценка сывороточных уровней трансформирующего фактора роста - β1 и тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы – 1 типа, а также показатели фиброэластометрии представляют ценную информацию для уточнения некоторых механизмов иммунопатогенеза и формирования фиброза печени у больных ХГ С.
2. У больных хроническим гепатитом С установлено достоверное повышение содержания в сыворотке крови трансформирующего фактора роста β1 и тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы 1-го типа по сравнению с соответствующими показателями у лиц контрольной группы.
3. Сывороточные показатели TGF-β1 и ТИМП-1, а так же показатели фиброэластометрии имеют достоверную связь с основными клинико - лабораторными характеристиками ХГ С, продолжительностью анамнеза, уровнем сывороточных трансаминаз и могут использоваться в практике для косвенной оценки течения заболевания.
4. Эффективная комбинированная противовирусная терапия пегилированным интерфероном-альфа-2а и рибавирином больных хроническим гепатитом С сопровождается статистически значимым снижением уровня трансформирующего фактора роста β1 и тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы 1-го типа в сыворотке крови.

**ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Определение уровней трансформирующегофактора роста 1-бета и тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы 1-го типа в сыворотке крови и показателя фиброэластометрии представляют ценную информацию для определения степени активности и стадии ХГ С.
2. Необходимо проводить комплексную оценку показателей трансформирующегофактора роста 1-бета, тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы 1-го типа в сыворотке крови и фиброэластометрии у больных хроническим гепатитом С.
3. Динамика снижения уровня трансформирующего фактора роста 1-бета и тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы 1-го типа, на фоне комбинированной терапии пегилированным интерфероном-альфа-2а и рибавирином у больных ХГ С, служит дополнительным критерием, свидетельствующим об эффективности проводимой противовирусной терапии.
4. Для оценки динамики фиброза печени у больных ХГ С в качестве скрининг-метода перед началом и в процессе терапии следует проводить фиброэластометрию печени.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Абдурахманов Д.Т. Латентная HBV-инфекция в патогенезе хро-нических заболеваний печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2002. № 6. С. 31-37.
2. Абдурахманов Д.Т., Коган Е.А., Демура С.М. и др. Роль апоптоза гепатоцитов и клеточных факторов его регулирования в прогрессировании хронического гепатита В // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2005. Т. ХV. № 2. С. 42-46.
3. Апросина З.Г., Серов В.В., Игнатова Т.М. и др. Системные проявления хронического вирусного гепатита // Хронический вирусный гепатит / под ред. В.В. Серова, З.Г. Апросиной. М.: Медицина, 2002. С. 221-295.
4. Аруин Л.И. Морфологическая классификация хронического гепатита // Архив патологии. 1995. Т. 57, № 3. С. 3-6.
5. Аруин Л.И. Апоптоз и патология печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 1998. № 2. С. 6-11.
6. Беловол А.Н., Князькова И.И. Клиническая эффективность медленнодействующих препаратов у больных с деформирующим остеоартрозом // Здоровья Украины. 2008. Т. 11, № 1. С. 89–92.
7. Блюм Х.Е. Гепатит С: современное состояние проблемы // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2005. № 1. С. 20-25.
8. Борсуков А.В., Крюковский С.Б., Покусаева В.Н. и др. Эластография в клинической гепатологии (частные вопросы). Монография. – Смоленск: Из-во «Смоленская городская типография», 2011. – 276 с.
9. Буеверов, А.О. Иммунологические механизмы повреждения печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 1998. Т. VIII, № 5. С. 18-21.
10. Глушенков Д.В., Коновалова О.Н., Ивашкин В.Т. и др. Неинвазивная диагностика фиброза печени на ранних стадиях его развития // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. (Приложение № 32). 2008. Т. 18, № 5. С. 83.
11. Глушенков Д.В., Павлов Ч.С., Маевская М.В., Ивашкин В.Т. и др. Возможности эластометрии и фибротеста в диагностике цирроза печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. (Приложение № 31). 2008. Т. 18, № 1. С. 9.
12. Глушенков Д.В., Павлов Ч.С., Золотаревский В.Б., Маевская М.В., Ивашкин В.Т. Эластометрия у больных ХГ С на ранних стадиях фиброза печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2007. Т. XVII, № 5. С. 90.
13. Горбаков В.В., Хазанов А.И., Блохина Н.П. и др. Естественное течение сочетанных вирусных гепатитов В и С // Клиническая микробиология. 2001. Т. 3, № 3. С. 209-214.
14. Ивашкин В.Т., Воликовский Л.Я., Тесаева Е.В. Первый российский опыт неинвазивной диагностики фиброза печени с помощью аппарата «ФиброСкан» // Российский журнал гастроэнтерологии и гепатологии. 2006. № 6. С. 65-69.
15. Ивашкин В.Т, Лукина Е.А., Луговская С.А., Маевская М.В., Шульпекова Ю.О., Маммаев С.Н. Механизмы иммунного «ускользания» при хроническом гепатите С // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии, 2002. № 2. С. 55-60.
16. Ивашкин В.Т. (ред.) Болезни печени и желчевыводящих путей: ру­ководство для врачей. М.: Изд. дом «М-Вести», 2005. 536 с.
17. Ивашкин В.Т., Павлов Ч.С., Золоторевский В.Б. и др. Возможность обратимости цирроза печени (клинические и патогенетические предпосылки) // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2006. Т. XVI, № 1. С. 20-29.
18. Игнатова Т.М. Естественное течение хронической HCV-инфекции // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2002. № 2. С. 20-30.
19. Калашникова М.М. Ультраструктурная характеристика процесса резорбции коллагена в цирротически измененной печени // Бюллетень экспериментальной биологии. 2000. Т. 129, № 1. С. 4-11.
20. Клишо Е.В., Кондакова И.В., Чойнзонов Е.Л. и др. Прогностическая значимость протеаз у больных плоскоклеточными карциномами головы и шеи // Бюллетень СО РАМН. 2005. Т. 116, № 2. С. 82–91.
21. Лукина, Е. А. Система мононуклеарных фагоцитов и биологические эффекты провоспалительных цитокинов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 1998. Т. 8, № 5. С. 7-13.
22. Маевская, М.В. Лечение больных хроническим гепатитом С с исходно нормальным уровнем активности аланинаминотрансферазы // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2005. Т. ХV, № 2. С. 21-25.
23. Майер, К.П. Гепатит и последствия гепатита / пер. с нем. М.: ГЭОТАР-Медиа , 1999. 197 с.
24. Маммаев, С.Н. Функциональная активность системы мононуклеарных фагоцитов у больных хроническими вирусными гепатитами: дисс. … д-ра мед. наук. М., 2002. 243 с.
25. Маммаев С.Н., Рамазанов Ш.Р. Про- и противовоспалительные цитокины у больных ХГС // 12-я Российская конференция «Гепатология сегодня»: материалы конференции. М., 2007. С. 34.
26. Маянский Д.Н. Роль стромы печени в патогенезе гепатитов // Вестник АМН СССР. 1988. № 5. С. 81-88.
27. Мезенцева Г.А. Морфогенез гепатита С: Альтерация и регенерация гепатоцитов в условиях персистирующей инфекции (патоморфологическое, иммуногистохимическое и молекулярно-биологическое исследование биоптатов печени): автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Новосибирск, 2005. 40 с.
28. Морозов С.В., Труфанова Ю.М., Павлова Т.В. и др. Применение эластографии для определения выраженности фиброза печени: результаты регистрационного исследования в России // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2008. № 2. С. 40-47.
29. Некрасова Т.П. Морфологическое исследование в оценке степени фиброза печени при хронических вирусных гепатитах // Гепатологический форум. 2007. № 2. С. 11-13.
30. Непомнящих Г.И., Аидагулова С.В., Непомнящих Д.Л. и др. Ультраструктурное и иммуногистохимическое исследование звездчатых клеток печени в динамике фиброза и цирроза печени инфекционно-вирусного генеза // Бюллетень экспериментаной биологии. 2006. Т. 142, № 12. С. 681-686.
31. Непомнящих Г.И., Толоконская Н.П. Биомолекулярные маркеры прогрессии персистирующих вирусных инфекций // Бюллетень СО РАМН. 2002. № 2. С. 25-30.
32. Непомнящих Г.И., Толоконская Н.П., Аидагулова СВ. и др. Ультра­структурные реакции клеточных популяций печени при действии РНК- и ДНК-геномных вирусов гепатита С+В // Бюллетень экспериментальной биологии. 1999. Т. 128, № 7.С. 101-105.
33. Никитин И.Г., Сторожаков Г.И. Хронический гепатит С: Актуальные вопросы диагностики и лечения // Клинические перспективы гастроэнтерологии гепатологии. 2001. № 3. С. 7-11.
34. Нохрина Ж.В. Клинико-морфологическое исследование различных вариантов хронической HCV+HBV-инфекции: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 2005. 22 с.
35. Онищенко Н.А. Регуляция восстановительных процессов в печени в норме и при патологии // Лечение печеночной недостаточности методами трансплантации и экстракорпорального подключения печени и других тканей / под ред. В.И. Шумакова и Н.А. Онищенко. М.: ВИНИТИ, 1994. С. 76-141.
36. Павлов Ч.С., Галимова С.Ф., Ивашкин В.Т. и др. Динамика гистологической активности хронического гепатита В (ХВГ-В) у больных, леченных ламивудином: материалы XI Российской конференции «Гепатология сегодня» // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2006. Т. XVI, № 1. С. 39.
37. Павлов Ч.С., Глушенков Д.В., Ивашкин В.Т. Современные возможности эластометрии, фибро- и акти-теста в диагностике фиброза печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2008. Т. XVIII, № 4. С. 43-52.
38. Павлов Ч.С., Золоторевский В.Б., Ивашкин В.Т. и др. Динамика показателей воспаления и фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом С (ХВГ-С) на фоне комбинированной терапии (интерфероном-α + рибавирином) // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2006. Т. XVI, № 1. С. 45. – (Материалы XI Российской конференции «Гепатология сегодня»).
39. Павлов Ч.С., Шульпекова Ю.О., Золотаревский В.Б., Ивашкин В.Т. Современные представления о патогенезе, диагностике и лечении фиброза печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2005. Т. ХV, № 2. С. 13-20.
40. Павлов Ч.С., Золоторевский В.Б., Ивашкин В.Т. и др. Современные методы ранней диагностики фиброза печени // Клиническая медицина. 2005. Т. 83, № 12. С. 58-60.
41. Павлов Ч.С., Золоторевский В.Б., Ивашкин В.Т. и др. Структура хронических заболеваний печени по данным биопсии и морфологического исследования ее ткани // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2007. Т. 17, № 1. С. 90.
42. Павлов Ч.С. Эластометрия или биопсия печени: Как сделать правильный выбор? // Российские медицинские вести. 2007. Т. XII, № 4. С. 51 - 57.
43. Павлов, Ч.С. Фиброз печени при хронических вирусных гепатитах В и С: дис… д-ра мед. наук. М., 2009. 252 с.
44. Пальцев А.И., Непомнящих Д.Л. Хронический гепатит: Эпи-демиология, этиология, патогенез, патоморфология, классификация, клиника, диагностика, лечение: методические рекомендации. Новосибирск, А.А 1997. 75 с.
45. Пальцев М.А., Иванов А.А. Межклеточные взаимодействия. М.: Медицина, 1995. 224 с.
46. Панин Л.Е., Максимов В.Ф., Хощенко О.М., Коростышевская И.М. Структурно-функциональные изменения в гепатоцитах и клетках Купфера при совместном действии глюкокортикоидов и липопротеинов низкой плот­ности // Цитология. 2002. Т. 43, № 12. С. 1150-1158.
47. Панченко Е.П., Добровольский А.Б. Тромбозы в кардиологии. Механизмы развития и возможности терапии. М.: Спорт и культура, 1999. 464 с.
48. Пациора М.Д. Хирургия портальной гипертензии. М.: Медицина, 1974. 232 с.
49. Подымова С.Д. Болезни печени: руководство для врачей. М.: Медицина, 1998. 544 с.
50. Покровский В.И., Непомнящих Г.И., Толоконская Н.П. Хронический гепатит С: Современные представления о пато- и морфогенезе. Концепция антивирусной стратегии гепатоцитов // Бюллетень экспериментальной биологии. 2003. Т. 135, № 4. С. 364-376.
51. Рамазанов Ш.Р. Показатели метаболизма железа и системы цитокинов у больных хроническим гепатитом С : автореф. дис. … канд. мед. наук. Махачкала, 2009. 20 с.
52. Рахманова А.Г., Неверов В.А., Кирпичникова Г.И. и др. Вирусные гепатиты (этиопатогенез, эпидемиология, клиника, диагностика и терапия): пособие для врачей. СПб., 2003. 57с.
53. Секамова С.М., Бекетова Т.П. Функциональная морфология печени / ред. В.В. Серов, К.М. Лапиш. М.: Медицина, 1989. С. 8.
54. Серов В.В., Лапиш К. Морфологическая диагностика заболеваний печени. М.: Медицина, 1989. 336 с.
55. Соловьева Н. И. Матриксные металлопротеиназы: регуляция активности и роль в процессе онкогенеза // Структура и функции протеолитических ферментов: материалы конференций (11–13 окт. 2000, Москва). М., 2000.
56. Соловьева Н.И. Матриксные металлопротеиназы и их биологические функции // Биоорганическая химия. 1998. № 24. С. 245–255.
57. Соловьева Н.И. Матриксные металлопротеиназы: регуляция активности и роль в процессе онкогенеза // Вопросы медицинской химии. 2000. № 5. С. 30–31.
58. Сюткин B.E., Милехин А.П., Трибунов Ю.П. и др. Возможности пункционной биопсии при хронических диффузных заболеваниях печени // Российский медицинский журнал. 2002. № 1. С. 28-31.
59. Сюткин В.Е., Лопаткина Т.Н., Иваников И.О. Клинические проявления и особенности течения сочетанной инфекции вирусного гепатита В, С и Д // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2000. № 4. С. 51-53.
60. Фрейдлин И.С. Паракринные и аутокринные механизмы цитокиновойиммунорегуляции // Иммунология. 2001. № 5. С. 4–7.
61. Хасигов П. З. и др. Роль металлопротеиназ матрикса в развитии диабетической нефропатии // Биохимия. 2000. Т. 65, № 5. С. 613–619.
62. Хасигов П.З., Подобед О.В., Кцоева С.А. Металлопротеиназы матрикса нормальных тканей человека // Биохимия. 2001. Т. 66, вып. 2. С. 167–179.
63. Циммерман Я.С. Эволюция учения о хронических гепатитах (вопросы классификации, терминологии, диагностики и лечения) // Клиническая медицина. 1996. № 8. С. 19-24.
64. Чалисова Н.И., Князькин И.В., Кветной И.М. Нейро-иммуноэндокринные механизмы действия пептидов и аминокислот в тканевых культурах. СПб.: Деан, 2005. 125 с.
65. Шапиро И.Я., Сек Ок Сун, Кноринг Б.Е. Особенности иммунного ответа и цитокиновый статус при различных вариантах течения цирроза печени // Мединская иммунология. 2002. Т. 4, № 4–5. С. 545–552.
66. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2002. 859 с.
67. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 1999. 864 с.
68. Шипов О.Ю., Сюткин B.E., Милехин А.П. и др. Ультразвуковое исследование при определении стадии хронических диффузных заболеваний печени // Врач. 2006. № 7. С. 49-52.
69. Ягода А.В [и др.] / Ростовые факторы и гистологическая картина печени при хроническом вирусном гепатите и циррозе // Экспер. клин. гастроэнтерол.: тез. докл. VI съезда научного общества гастроэнтерологов России. – М.: Анахарсис, 2006. - С. 111-112.
70. Ягода А.В., Гейвандова Н.И., Хубиев Ш.М. Фактор некроза опухоли α при хронических вирусных гепатитах – патогенетическая роль // Иммунология. 2000. Т. 2. С. 36–38.
71. Якимова В.Б., Жестовская С.И. Особенности артериальной гемо­динамики при хронических гепатитах и циррозе печени // Ультразвуковая и функциональная диагностика. 2005. Т. 5. С. 13-18.
72. Ярилин, А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии // Иммунология. 1997. № 5. С. 7-13.
73. Afdhal N.H., Nunes D. Evaluation of liver fibrosis: a concise review // Am. J. Gastroenterol. 2004. V. 99. P. 1160-1174.
74. Akiri G., Sabo E., Dafni H. [et al.] Lysyl oxidase-related protein-1 promotes tumor fibrosis and tumor progression in vivo // Cancer. Res. 2003. V. 63, N 17. P. 1657-1666.
75. Ali H.A., Berkovitz R., Reich R., Srebnik M. Matrix metalloproteinase (MMP-2) organoboronate inhibitors // Arch. Pharm. (Weinheim). 2004. V. 337 (4). P.183–187.
76. Alter M.J., Kruszon-Moran D., Nainan O.V. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States from 1988 till 1994 // N. Engl. J. Med. 1999. V. 341. P. 556-562.
77. Andreas C., Francis V., Chisari. Pathogenesis of chronic hepatitis C: immunological features of hepatic injury and viral persistence // Hepatology. 1999. V. 30, N 3. P. 595-601.
78. Arthur M.J. Degradation of matrix proteins in liver fibrosis // Pathol. Res. Pract. 1994. V. 190 (9-10). P. 825-833.
79. Arthur M.J. Reversibility of liver fibrosis and cirrhosis following treatment for hepatitis С // Gastroenterology. 2002. V. 122. P. 1525-1528.
80. Arthur M.J., Friedman S.L., Roll F.J., Bissell D.M. Lipocytes from normal rat liver release a neutral metalloproteinase that degrades basement membrane (type IV) collagen // J. Clin. Invest. 1989. V. 84 (4). P. 1076-1085.
81. Bachem M.G. [et al.] Identification, culture, and characterization of pan-creatic stellate cells in rats and humans // Gastroenterology. 1998. V. 115. P. 421-432
82. Bader T., Fazili J., Madhoun M. [et al.] Fluvastatin inhibits hepatitis С replication in humans // Am. J. Gastroenterol. 2008. V. 103. P. 1383 - 1389.
83. Baker A. B. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities // J. Cell Science. 2002. V. 115. P. 3719–3727
84. Barreiro P., Martin-Carbonero L., Nunez M. [et al.] Predictors of liver fibrosis in HIV-infected patients with chronic hepatitis С virus (HCV) infection: assessment using transient elastometry and role of HCV genotype 3 // Clin. Inf. Dis. 2006. V. 42, N 7. P. 1032-1039.
85. Bataller R., Brenner D.A. Liver fibrosis // J. Clin. Invest. 2005. V. 115. P. 209-218.
86. Bataller R., Schwabe R.F., Choi Y.H. [et al.] NADPH oxidase signal transduces angiotensin II in hepatic stellate cells and is critical in hepatic fibrosis // J. Clin. Invest. 2003. V. 112, N 9. P. 1383-1394.
87. Beaugrand M. How to assess liver fibrosis and for what purpose? // J. of Hepatology. 2006. V. 44, N 3. P. 444-445.
88. Beaugrand M. Liver stiffness measerement: new tool to assess liver fibrosis. // EASL Single Topic Conference on the role of liver biopsy in diagnosis and menagement of chronic liver disease, June 14-15. Torino, Italy, 2004.
89. Ben S., LiX., Xu F. [et al.] Treatment with anti-CC chemokine receptor 3 monoclonal antibody or dexamethasone inhibits the migration and differentiation of bone marrow CD34 progenitor cells in an allergic mouse model // Allergy. 2008. V. 63 (9). P. 1164-1176.
90. Bhowmick N.A., Chytil A., Plieth D. [et al.] TGF signalling in fibroblasts modulates the oncogenic potential of adjacent epithelia // Science. 2004. V. 303, N 5659. P. 848-851.
91. Biasi L. Avanzamenti in diagnostic infettivologica il fibroscan // Proceedings of the 5 congresso nazionale Societa Italiana Malattie Infettive e Tropicali, Catania, 2006. P. 6.
92. Bister V., Skoog T., Virolainen S. [et al.] Increased expression of matrix metalloproteinases-21 and -26 and TIMP-4 in pancreatic adenocarcinoma // Mod. Pathol. 2007. V.20 (11). P.1128–1140.
93. Blazejewski S., Preaux A.M., Mallat A. [et al.] Human myofibroblastlic cells obtained by outgrowth are representative of the fibrogenic cells in the liver // Hepatology. 1995. V. 22, N 3. P. 788-797.
94. Blomhoff R., Berg Т., Norum K.R. Transfer of retinol from paren­chymal to stellate cells in liver is mediated by retinol-binding protein // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V. 85. P. 3455-3458.
95. Bode W., Fernandez-Catalan С., Tschesche H. [et al.] Structural properties of matrix metalloproteinases // Cell Mol. Life Sci. 1999. V. 55. P. 639–652.
96. Boeker R.H., Haberkorn C.I., Michels D. [et al.] Diagnostic potential of circullating TIMP-1 and MMP-2 as markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C // Clin. Chim. Acta. 2002. V. 316. P. 71-81.
97. Bonkovsky H.L., Banner B.F., Lambrecht R.W., Rubin R.B. Iron in liver diseases other than hemochromatosis // Sem. Liver Dis. 1996. V. 16. P.65-82.
98. Booth M., Mwatha J.K., Joseph S. [et al.] Periportal fibrosis in human Schistosomamansoni infection is associated with low IL-10, low IFNy, high TNFa, or low RANTES, depending on age and gender // J. Immunol. 2004. V. 172, N 2. P. 1295-1303.
99. Bramhall S.R. The matrix metalloproteinases and their inhibitors in pancreatic cancer // Int. J. Pancreatol. 1997. V. 21 (1). P. 1–12.
100. Bravo A.A, Sheth S.G, Chopra S. Liver biopsy // N. Engl. J. Med. 2001. V. 344. P. 495-500.
101. Brown D.L. [et al.] Clinical and biochemical results of the metalloproteinase inhibition with subantimicrobial doses of doxycycline to prevent acute coronary syndromes (MIDAS) pilot trial // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2004. V. 24. P. 733–738.
102. Bruno S., Slrotfolini T., Colombo M. [et al.] Sustained virological response to interferon-alpha is associated with improved outcome in HCV-related cirrhosis: a retrospective sludy // Hepalology. 2007. V. 45(3). P. 579-587.
103. Cacciarelli T.V., Martinez O.M., Gish R.G. [et al.] Immunoregulatory cytokines in chronic hepatitis C virus infection: pre- and post-treatment with interferon - alfa // Hepatology. 1996. V. 24, N 1. P. 6-9.
104. Callewaert N., Van Vlierberghe H., Van Hecke A. [et al.] Noninvasive diagnosis of liver cirrhosis using DNA sequencer-based total serum protein glycomics // Nat. Med. 2004. V. 10. P. 429-434.
105. Canbay A., Friedman S., Gores G.J. Apoptosis - the nexus of liver injury and fibrosis // Hepatology. 2004. V. 39. P. 273–278.
106. Canbay A., Taimr P., Torok N. [et al.] Apoptotic body engulfment by a human stellate cell line is profibrogenic // Lab. Invest. 2003. V. 83. P. 655-663.
107. Carrion J.A., Navasa M., Bosch J. et al. Transient elastography for diagnosis of advanced fibrosis and portal hypertension in patients with hepatitis С recurrence after liver transplantation // Liver Transplantation. 2006.
108. Cassiman D., Libbrecht L., Desmet V. [et al.] Hepatic stellate cell/myofibroblast subpopulations in fibrotic human and rat livers // J. Hepatol. 2002. V. 36. P. 200-209.
109. Castera L., Foucher J., Bertet J., Couzigou P. FibroScan and FibroTest to assess fibrosis in HCV with normal aminotransferases // Hepatology. 2006. V. 43, N 2. P. 373-374.
110. Castera L., Vergniol J., Foucher J. [et al.] Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis С // Gastroenterology. 2005. V. 128. P. 343-350.
111. Cheng S., Lovett D.H. Gelatinase A. (MMP-2) is necessary and sufficient for renal tubular cell epithelial-mesenchymal transformation // Am. J. Pathol. 2003. V. 162, N 6. P. 1937-1949.
112. Chiaramonte M.G., Cheever A.W., Malley J.D. [et al.] Studies of murine schistosomiasis reveal interleukin-13 blockade as a treatment for established and progressive liver fibrosis // Hepalology. 2001. V. 34, N 2. P. 273-282.
113. Cholongitas E., Senzolo M., Standish R. [et al.] A systematic review of the quality of liver biopsy specimens // Am. J. Clin. Pathol. 2006. V. 125. P. 710-721.
114. Cloufhier D.E., Comerford S.A., Hammer R.E. Hepatic fibrosis, glomerulosclerosis, and a lipodystrophy-like syndrome in PEPCK-TGF-β1 transgenic mice // J. Clin. Invest. 1997. P. 2697-2713.
115. Colletta C., Smirne C., Fabris C. [et al.] Value of two noninvasive methods to detect progression of fibrosis among HCV carriers with normal aminotransferases // Hepatology. 2005. V. 42, N 4. P. 838-845.
116. Corpechot C, Naggar A., Poujol-Rqbert A. [et al.] Assessment of billiary fibrosis by transient elastography in PBC and PSC patients // Hepatology. 2006. V. 43, N 5. P. 1118-1124.
117. Corpechot C., Barbu V., Wendum D. [et al.] Hypoxia-in-duced VEGF and collagen I expressions are associated with angiogenesis and fibrogenesis in experimental cirrhosis // Hepatology. 2002. V. 35. P. 1010-1021.
118. D'Alessio S., Ferrari G., Cinnante K. [et al.] Tissue inhibitor of metalloproteinases-2 binding to membrane-type 1 matrix metalloproteinase induces MAPK activation and cell growth by a non-proteolytic mechanism // J. Biol. Chem. 2008. V. 283 (1). P. 87–99.
119. Day C. The potential role of genes in nonalcoholic fatty liver disease // Clin. Liver Dis. 2004. V. 8. P. 673–691.
120. David R. Nelson, Constantine G. M., Tomoyoshi O. [et al.] Intrahepatic hepatitis C virus-specific cytotoxic T-lymphocyte activity and response to interferon alfa therapy in chronichepatitis C // Hepatology. 1998. V. 28, N l. P. 225-230.
121. Davis G.L., Albrigh J.E., Cook S.F. [et al.] Projecting future complications of chronic hepatitis C in the United States // Liver Transpl. 2003. V. 9. P. 331-333.
122. Demols A., Van Laethem J.L., Quertinmont E. [et al.] Endogenous inter-leukin-10 modulates fibrosis and regeneration in experimental chronic pancreatitis // Am. J. Physiol. Gaslrointest. Liver Physiol. 2002. V. 282, N 6. P. 1105-1112.
123. Desenclos J., Surveillance of infectious diseases and microbiological expertise // MED. MAL. INF. 2000. V.30. P. 221-224.
124. Desmet V.J. Milestones in liver disease. Scoring chronic hepatitis // J. Hepatol. 2003. V. 38. P. 382-386.
125. Di Carlo C., Bonifacio M., Tommaselli G.A. [et al.] Metalloproteinases, vascular endothelial growth factor, and angiopoietin 1 and 2 in eutopic and ectopic endometrium // Fertil Steril. 2009. V. 91 (6). P. 2315–2323.
126. Dinarello C. Inflammatory Cytokine Antogonist. Philadelfhia, 1994. P. 1-20.
127. Direkze N.C., Forbes S.J., Brittan M. et al. Multiple organ engraftment by bone-marrow-derived. 2003. V. 21, N 5. P. 514-520.
128. Dixit N.M., Perelson A.S. The metabolism, pharmacokinetics and mechanisms of antiviral activity of ribavirin against hepatitis C virus // Cell Mol. Life Sci. 2006. V. 63(7-8). P.832-842.
129. Dreier R. [et al.] Paracrine interactions of chondrocytes and macrophages in cartilage degradation: articular chondrocytes provide factors that activate macrophage-derived pro-gelatinase B (pro-MMP-9) // J. Cell Science. 2001. V. 114. P. 3813–3822.
130. Farber J.L., El-Mofty S.K. The biochemical pathology of liver cell necrosis // Am. J. Pathol. 1975. V. 85. P. 237-250.
131. Feld J.J., Nanda S., Huang Y., Chen W., Cam M. [et al.] Hepatic gene expression during treatment with peginterferon and ribavirin: Identifying molecular pathways for treatment response // Hepatology. 2007. 46(5):1548-1563.
132. Feng J. [et al.] Relationship between matrix metalloproteinase-2 mRNA expression and clinicopathological and urokinasetype plasminogen activator system parameters and prognosis in human gastric cancer // World Journal of Gastroenterology. 2005. V. 11, N 21. P. 3222–3226.
133. Ferard G., Piton A., Messous D. et al. Intermethod calibration of alanine aminotransferase (ALT) and gammaglutamyltransferase (GGT) results: application to FibroTest and ActiTest scores // Clin. Chem. Lab. Med. 2006. V. 44. P. 400-406.
134. Ferenci P., Ferenci S., Datz C., Rezman I., Oberaigner W., Strauss R. Morbidity and mortality in paid Austrian plasma donors infected with hepatitis C at plasma donation in the 1970  // Journal of Hepatology. 2007. V. 47(1). P. 31–36.
135. Fichtner-Feigl S., Strober W., Kawakami K. [et al.] IL-13 signalling through the IL-13 a 2 receptor is involved in induction of TGF-β1 production and fibrosis // Nat. Med. 2006. V. 12, N 1. P. 99-106.
136. Fontana R.J., Lok A.S. Noninvasive monitoring of patients with chronic hepatitis C // Hepatology. 2002. V. 36. P.57- 64.
137. Forbes S.J., Russo F.P., Rey V. [et al.] A significant proportion of myofibroblasts are of bone marrow origin in human liver fibrosis // Gastroenterology. 2004. V. 126. P. 955-963.
138. Forns X., Ampurdanes S., Llovet J.M. [et al.] Identification of chronic hepatitis C patients without hepatic fibrosis by a simple predictive model // Hepatology. 2002. V. 36. P. 986-992.
139. Fortuna V.A., Martucci R.B., Trugo L.C., Borojevic R. Hepatic stellate cells uptake of retinol associated with retinol-binding protein or with bovine serum albumin // J. Cell. Biochem. 2003. V. 90. P. 792-805.
140. Fraquelli M., Rigamont C., Casazza G. [et al.] Reproducibility of transient elastography in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic liver disease // Gut. 2007. V. 56 (7). P. 968-973.
141. Friedman S.L., Bansal M.B. Reversal of hepatic fibrosis – fact or fantasy? // Hepatology. – 2006. – Vol. 43, N 2 (suppl. 1). – P. 82–88.
142. Friedman S. The cellular basis hepatic fibrosis mechanism and treatment strategies // New Eng. J. 1993. V. 328. P.1828-1835.
143. Friedman S., Rockey D., Montgomery B. Hepatic fibrosis: Report of the third AASLD Single Topic Conference // Hepatology. 2006. V. 45-51. Р. 242-249.
144. Friedman S.L. Cytokines and fibrogenesis // Sem. Liver Dis. 1999. V. 19. P. 129-140.
145. Friedman S.L. Mechanisms of disease: mechanisms of hepatic fibrosis and therapeutic implications // Nat. Clin. Pract. Gastroenterol. Hepatol. 2004. V. 1, N 2. P. 98-105.
146. Friedman S.L. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury // J. Biol. Chem. 2000. V. 275. P. 2247-2250
147. Frisch S. M., Ruley H. Transcription of the Stromelysin Promoter Is Induced by Interleukin-1 and Repressed by Dexamethasone // J. Biol. Chem. 1987. V. 262. P. 16300–16304.
148. Fuja T.J., Probst-Fuja M.N., Titze I.R. Changes in expression of extra-cellular matrix genes, fibrogenic factors, and actin cytoskeletal organization in re¬tinol treated and untreated vocal fold stellate cells // Matrix Biol. 2006. V. 25. P. 59-67.
149. Gabison E.E., Hoang-Xuan T., Mauviel A. [et al.] EMMPRIN/CD147, an MMP modulator in cancer, development and tissue repair // Biochemistry. 2005. V. 87 (3–4). P. 361–368.
150. Gaga M.D., Pickering J.A., Arthur M.J., Benyon R.C. Human and rat hepatic stellate cells produce stem cell factor: a possible mechanism for mast cell recruitment in liver fibrosis // J. Hepatol. 1999. V. 30 (5). P. 850-858.
151. Galis Z.S., Khatri J.J. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly // Circ Res. 2002. N. 90. P. 251–262.
152. Ganne-Carrie N., Lidinghen V., Douvin C. [et al.] Performances de la mesure de l`elasticitehepatique pour le diagnostic de cirrhose au cours des maladies chroniques du foie: etude multicentrique chez 1345 malades // 57-emes Journees de l`AFEF. Sept 29-30. Bordeaux, France, 2005.
153. Ghany M., Doo E. Assessment of liver fibrosis: palpate, poke or pulse? // Hepatology. 2005. V. 42, N 4. P. 759-761.
154. Giannopoulos G., Pavlakis K., Parasi A. [et al.] The expression of matrix metalloproteinases-2 and -9 and their tissue inhibitor 2 in pancreatic ductal and ampullary carcinoma and their relation to angiogenesis and clinicopathological parameters // Anticancer Res. 2008. V. 28 (3B). P. 1875–1881.
155. Gressner A.M., Weiskirchen R., Breitkopf K., Dooley S. Roles of TGF-beta in hepatic fibrosis // Front Biosci. 2002. V. 17. P.793-807.
156. Guechot J., Laudat A. [et al.] Diagnostic accuracy of hyaluronan and type III procollagen amino-terminal peptide serum assays as markers of liver fibrosis in chronic viral hepatitis С evaluated by ROC curve analysis // Clin. Chem. 1996. V. 42. P. 558-563.
157. Guido M., Rugge M., Leandro G. [et al.] Hepatic stellate cell immunodetection and cirrhotic evolution of viral hepatitis in liver allografts // Hepatology. 1997. V. 26, N 2. P. 310-314.
158. Guo K., Ma Q, Wang L. [еt al.] Norepinephrine-induced invasion by pancreatic cancer cells is inhibited by propranolol // Oncol. Rep. 2009. V. 22 (4). P. 825–830.
159. Han Y.P., Zhou L., Wang J. [et al.] Essential role of matrix metalloproteinases in interleukin-1-induced myofibroblastic activation of hepatic stellate cell in collagen // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. P. 4820-4828.
160. Heathcote E., Shiffman M., Cooksley W. [et al.] Pegintcrfcron alfa-2a in patients with chronic hepatitis С and cirrhosis // N. Engl. J. Med. 2002. V. 343(23). P.1673-1680.
161. Heymans S, Luttun A. [et al.] Inhibition of plasminogen activators or matrix metalloproteinases prevents cardiac rupture but impairs therapeutic angiogenesis and causes cardiac failure. Nat Med 1999;5:1135 –1142.
162. Heymans S., Lupu F., Terclavers S. [et al.] Loss or inhibition of uPA or MMP-9 attenuates LV remodelling and dysfunction after acute pressure overload in mice // Am. J. Pathol. 2005. V. 166, N 1. P. 15-25.
163. Hiller O. Matrix metalloproteinases collagenase-2, macrophage elastase, collagenase-3, and membrane type 1-matrix metalloproteinase impair clotting by degradation of fibrinogen and factor XII // J. Biol. Chem. 2000. V. 275. P. 8–13.
164. Hilska M., Roberts P.J., Collan Y.U. [et al.] Prognostic significance of matrix metalloproteinases-1, -2, -7 and -13 and tissue inhibitors of metalloproteinases-1, -2, -3 and -4 in colorectal cancer // J. Cancer. 2007. V. 121 (4). P.714-723.
165. Hirata M., Akbar S.M., Horiike N., Onji M. Noninvasive diagnosis of the degree of hepatic fibrosis using ultrasonography in patients with chronic liver disease due to hepatitis C virus // Eur. J. Clin. Invest. 2001. V. 31. P. 528-535.
166. Hirsch B. [et al.] Stimulation of matrix-metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 gene expression in rats by the preovulatory prolactin peak // European Journal of Endocrinology. 1999. V. 140. P. 583–589.
167. Huang H., Shiffman M.L., Friedman S. [et al.] A seven gene signature identifies the risk of developing cirrhosis in patients with chronic hepatitis С // Hepatology. 2007. V. 46, N 2. P. 297-306.
168. Imbert-Bismut F., Ratziu V., Pieroni L. [et al.] Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study // Lancet. 2001. V. 357. P. 1069-1075.
169. Inagaki N. Analysis of intra-uterine cytokine concentration and matrix-metalloproteinase activity in women with recurrent failed embryo transfer // Human Reproduction. 2003. V. 18, N 3. P. 608–615.
170. Iredale J.P. Models of liver fibrosis: exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ // J. Clin. Invest. 2007. V. 117, N 3. P. 539-548.
171. Iredale J.P., Benyon R.C., Pickering J. [et al.] Mechanisms of spontane­ous resolution of rat liver fibrosis. Hepatic stellate cell apoptosis and reduced he­patic expression of metalloproteinase inhibitors // J. Clin. Invest. 1998. V. 102, N 3. P. 538-549.
172. Irwin J. C. [et al.] Human endometrial matrix metalloproteinase-2, a putative menstrual proteinase. Hormonal regulation in cultured stromal cells and messenger RNA expression during the menstrual cycle // J. Clin. Invest. 1996. V. 97, N 2. P. 438–447.
173. Ishak K., Baptista A., Bianchi L. [et al.] Histological grading and staging of chronic hepatitis // J. Hepatol. 1995. V. 22. P. 696-699.
174. Jamall I.S., Finelli V.N., Que Нее S.S. A simple method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissues // Anal. Biochem. 1981. V. 112. P. 70-75.
175. Jefferis B.J., Whincup P., Welsh P. [et al.] Prospective study of matrix metalloproteinase-9 and risk of myocardial infarction and stroke in older men and women // Atherosclerosis. 2009. V. 19.
176. Jezequel A.M. [et al.] A morphological study of the early stages of hepatic fibrosis induced by low doses of dimethylnitrosamine in the rat // J. Hepatol. 1987. V. 5. P. 174-181.
177. Jiang Y., Goldberg I.D., Shi Y.E. Complex roles of tissue inhibitors of metalloproteinases in cancer // Oncogene. 2002. V. 21. P. 2245–2252.
178. Jing-Fang Zhang [et al.] DNA ploidy analysis and expression of MMP-9, TIMP-2, and E-cadherin in gastric carcinoma // World Journal of Gastroenterology. 2005. V. 11, N 36. P. 5592–5600.
179. Jokimaa V. [et al.] Altered expression of genes involved in the production and degradation of endometrial extracellular matrix in patients with unexplained infertility and recurrent miscarriages // Molec. Human Reproduction. 2002. V. 8, N 12. P. 1111–1116.
180. Kaminski N., Allard J.D., Pittet J.F. [et al.] Global analysis of gene expression in pulmonary fibrosis reveals distinct programs regulating lung inflammation and fibrosis // Proc. Natl. Acad. Sci USA. 2000. V. 97, N 4. P. 1778-1783.
181. Kanomata N. Expression and localization of mRNAs for matrix metalloproteinases and their inhibitors in mixed bronchioloalveolar carcinomas with invasive components // Modern Pathology. 2005. N 18. Р. 828–837.
182. Kanzler S., Beumann M., Schirmacher P. [et al.] Prediction of progressive liver fibrosis in hepatitis C infection by serum and tissue levels of transforming growth factor р. // J. Viral Hepat. 2001. N. 8. P. 430-438.
183. Kazushi I., Yasuo Y., Isao N. [et al.] Matrix metalloproteinase 7 (Matrilysin) from human rectal carcinoma cells. Activation of the precursor, interaction with other matrix metalloproteinases and enzymic properties // J. Biol Chem. 1995. V. 270 (12). P. 6691–6697.
184. Kelleher T.B., Afdhal N. Noninvasive assessment of liver fibrosis // Clinics in Liver Disease. 2005. V. 9, N 4. P. 667-683.
185. Kelleher T.B. Prediction of hepatic fibrosis in HIV/HCV co-infected patients using serum fibrosis markers: the SHASTA Index // J. Hepatology. 2005. V. 43. P. 78-84.
186. Kenneth J.S., Nicholas W.L., Lisa C. [et al.] Cytokines and the liver // J. Hepatology. 1997. V. 27. P. 1120-1132.
187. Kim W.R. The burden of hepatitis C in the United States // Hepatology. 2002. V. 36. P. 530-534.
188. Knittel T., Janneck T., Muller L. [et al.] Transforming growth factor beta 1-regulated gene expression of Ito cells // Hepatology. 1996. V. 24, N 2. P. 352-360.
189. Kristensen D.B., Kawada N., Imamura K. [et al.] Proteome analysis of rat hepatic stellate cells // Hematology. 2000. V. 32, N 2. P. 268-277.
190. Lanone S., Zheng Т., Zhu Z. [et al.] Overlapping and enzyme-specific contributions of matrix metalloproteinases-9 and -12 in lL-13-induced inflammation and remodelling // J. Clin. Invest. 2002. V. 110, N 4. P. 463-474.
191. Le Roith D. Insulin-like growth factors molecular and cellular aspects // CRC press INC. USA. 2000. P. 49–87.
192. Ledinghen V., Douvin C., Kettaneh A. [et al.] Diagnosis of hepatic fibrosis and cirrhosis by transient elastography (FibroScan in HIV-HCV со-infected patients // J. of Acquired Immune Deficiency Syndromes. 2006. V. 41, N 2. P. 175-179.
193. Lee C.G., Homer R.J., Zhu Z. [et al.] Interleukin-I3 induces tissue fibrosis by selectively stimulating and activating transforming growth factor-1 // J. Exp. Afe. 2001. V. 194, N 6. P. 809-821.
194. Lehrke M., Greif M., Broedl U.C. [et al.] MMP-1 serum levels predict coronary atherosclerosis in humans // Cardiovasc Diabetol. 2009. N 8. P. 50
195. Leroy V., Monier F., Bottari S. [et al.] Circulating Matrix Metalloproteinases 1, 2, 9 and Their Inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 as Serum Markers of Liver Fibrosis in Patients With Chronic Hepatitis C: Comparison With PIIINP and Hyaluronic Acid // American J. Gastroenterology. 2004. V. 99. P. 271–276.
196. Lichtinghagen R., Michels D., Haberkorn C.I. [et al.] Matrix metallo-proteinase (MMP)-2, MMP-7, and tissue inhibitor of metallopro-teinase-1 are closely related to the fibroproliferative process in the liver during chronic hepatitis C // J. Hepatol. 2001. V. 34. P. 239-247.
197. Lou S., Li Y. Expression of platelet-derived growth factor-BB in liver tissues of patients with chronic hepatitis B // World J. Gastroenterol. 2004. V. 10 (3). P. 385–388.
198. Louis H., Van Laethem J.L., Wu W. [et al.] Interleukin-10 controls neu-trophilic infiltration, hepatocyte proliferation, and liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in mice // Hepatology. 1998. V. 28, N 6. P. 1607-1615.
199. Lui C.H., Lin J.W., Tsai F.C. [et al.] Noninvasive tests for the prediction of significant hepatic fibrosis in hepatitis С vims carriers with persistently normal alanine aminotransferases // Liver International. 2006. V. 26. P. 1087-1094.
200. Luo J.W., Shao J.H., Bai J. [et al.] Using transient elastography for the assessment of hepatic fibrosis // Zhonghua Gan Bing Za Zhi. 2006. V. 14, N 5. P. 395-397.
201. MacNaul K.L. [et al.] Discoordinate Expression of Stromelysin, Collagenase and Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1 in Rheumatoid Human Synovial Fibroblasts. Synergistic Effects of Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor-cx on Stromelysin Expression // Biol. Chem. 1990. V. 265. P. 17238–17245.
202. Malemud CJ. Matrix metalloproteinases (MMPs) in health and disease: an overview // Front Biosci. 2006. V. 11. P. 1696–16701.
203. Mann D.A., David S., Julie T., Michael J.P. Control of TIMP-1 gene transcription in hepatic myofibroblasts by a combination of AP-1 proteins and novel transcription factors // Int .J. Exp Pathol. 2000. V. 81. P. 18-19.
204. Markus M., Ulrich W., Patrice D. et al. Regulation of CD95 (APO-1/Fas) receptor and ligand expression by lipopolysaccharide and dexamethasone in parenchymal and nonparenchymal rat liver cells // Hepatology. 1998. V. 27, N l. P. 200-208.
205. Marra F., Efsen E., Romanelli R.G. [et al.] Ligands of peroxisome proliferator-activated receptor gamma modulateprofibrogenic and proinflammatory actions in hepatic stellate cells // Gastroenterology. 2000. V. 119. P. 466-478.
206. Masaki N., Imamura M., Kikuchi Y., Oka S. Usefulness of elastometry in evaluating the extents of liver fibrosis in hemophiliacs co-infected with hepatitis С virus and human immunodeficiency virus // Hepatology Research. 2006. V. 35. P. 135-139.
207. Melendez-Zajgla J., Del Pozo L., Ceballos G., Maldonado V. Tissue inhibitor of metalloproteinases-4. The road less traveled // Mol. Cancer. 2008. N 7. P. 85.
208. Melin P., Dacon A., Gauchet A. [et al.] Depistage non invasif de la fi-brose -Interet du FibroScan en consultation d'alcoologie // Alcoologie et Addicto-logie. 2005. V. 27, N 3. P. 191-196.
209. Mohammed F., Smookler D., Khokha R. Metalloproteinases, inflammation, and rheumatoid arthritis // Ann. Rheum. Dis. 2003. V. 62. Suppl. (II). P. 1143–11447.
210. Nagase H., Woessner J. Matrix Metalloproteinases // J. Biol. Chem. 1999. V. 274, N 31. Р. 21491–21494.
211. Natoli A. K. [et al.] Sex steroids modulate human aortic smooth muscle cell matrix protein deposition and matrix metalloproteinase expression // Hypertension. 2005. N 46. P. 1129–11234.
212. Nellson D.R., Gonzales-Peralta R.P., Qian K. [et al.] Transforming growth factor-p in chronic hepatitis // J. Viral Hepat. 1997. N 4. P. 29-35.
213. Nojgaard C., Johansen J.S., Kramp H.B. [et al.] Effect of antiviral therapy on markers of fibrogenesis in patients with chronic hepatitis C. Scand // J. Gastroenterol. 2003. V. 38. P. 659-665.
214. Nunez O., Fernandez-Martinez A., Majano P. Increased intrahepatic cyclooxygenase-2, matrix metalloproteinase-2, and matrix metalloproteinase 9 expression is associated with progressive liver disease in chronic hepatitis C virus infection- role of viral core and NS5A proteins // Gut. 2004. V. 53. P. 1665-1672.
215. Okazaki I., Ninomiya Y., Friedman S., Tanikawa K. Extracellular matrix and the liver, approach to gene therapy // Academic Press. 2003. P. 15–36; 100–110; 155–169.
216. Ong C.J., Ip S., Teh S.J. [et al.] A role for T helper 2 cells in mediating skin fibrosis in tight-skin mice // Cell. Immunol. 2007. V. 196, N 1. P. 60-68.
217. Palitzsch K.D., Hottentrager B., Schlottmann K. [et al.] Prevalence of antibodies against hepatitis C virus in the adult German population // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. 1999. N 11. P. 1215–1220.
218. Pardo A., Selman M. Matrix metalloproteases in aberrant fibrotic tissue remodelling // Proc. Am. Thorac. Soc. 2006. V. 3, N 4.P. 383-388.
219. Parsons C.I. [et al.] Antifibrotic effects of a tissue inhibitor of metallo-proteinase-1 antibody on established liver fibrosis in rats // Hepatology. 2004. V. 40. P. 1106-1115.
220. Parsons С.I., Takashima M., Rippe R.A. Molecular mechanisms of hepatic fibrogenesis // J. Gastroenterol. Hepatol. 2007. V. 22, N 1. P. 79-84.
221. Patel K., Gordon S.C., Jacobson I. [et al.] Evaluation of a panel of non-invasive serum markers to differentiate mild from moderate to advanced liver fibrosis in chronic hepatitis C patients // J. Hepatol. 2004. V. 41. P. 935-942.
222. Porter S., Clark I.M., Kevorkian L., Edwards D.R. The ADAMTS metalloproteinases // Biochem. J. 2005. V. 386 (Pt 1). P. 15–27.
223. Poynard Т., Bedossa P., Mathurin P. [et al.] Apolipoprotein Al and he­patic fibrosis // J. Hepatol. 1995. V. 22. P. 107-110.
224. Poynard T. [et al.] Overview of diagnostic value of biochemical markers of liver fibrosis and necrosis in patients with chronic hepatitis C // Comparative Hepatology. 2004. V. 3. P. 8.
225. Poynard T. Cost effectiveness of pegylated interferon alpha 2b and ribavirin combination in chronic hepatitis С // Gut. 2003. V. 52. P. 1532.
226. Poynard Т., Imbert-Bismut F., Ratziu V. [et al.] Biochemical markers of liver fibrosis in patients infected by Hepatitis С Virus: Longitudinal validation in a .randomized trial // J. Viral. Hep. 2002. V. 9. P.128-133.
227. Puro V., Petrosillo N., Ippolito G. [et al] Risk of hepatitis C seroconversion after occupational exposures in health care workers // Am. J. Infect. Control. V. 23. P. 273-277; 1995.
228. Regev A., Berho M., Jeffers L.J. [et al.] Sampling error and intraobserv-er variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection // Am. J. Gastroenterol. 2002. V. 97. P. 2614-2618.
229. Reif S. [et al.] Matrix Metalloproteinases 2 and 9 Are Markers of Inflammation but Not of the Degree of Fibrosis in Chronic Hepatitis C // Digestion. 2005. V. 71, N 2. P. 124–130.
230. Roberts A.B. [et al.] Transforming growth factor type beta: rapid induction of fibrosis and angiogenesis in vivo and stimulation of collagen formation in vitro // Proc. Natl. Acad. Sci. US. 1986. V. 183. P. 4167-4171.
231. Rockey D.C. Vascular mediators in the injured liver // Hepatology. 2003. V. 37. P. 4-12.
232. Roffi L., Colloredo G., Pioltelli P. [et al.] Pegylaled interferon-alpha2b plus ribavirin: an efficacious and well-tolerated treatment regimen for patients with hepatitis C virus related histologically proven cirrhosis // Antivir Thcr. 2008. N 13. P.663-673.
233. Rosenberg W.M., Voelker M., Thiel R. [et al.] Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study // Gastroenterology. 2004. V. 127. P. 1704-1713.
234. Roulot D., Durand H., Coste T. [et al.] Quantitative analysis of transforming growth factor beta 1 messenger RNA in the liver of patients with chronic hepatitis C: absence of correlation between high levels and severity of disease // Hepatology. 1995. V. 21, N 2. P. 298-304.
235. Roulot D., Sevcsik A.M., Coste T. [et al.] Role of transforming growth factor-p type II receptor in hepatic fibrosis: studies of human chronic hepatitis C and experimental flbrosis in rats // Hepatology. 1999. V. 29, N 6. P. 1730-1738.
236. Rusnati M., Presta M. Fibroblast growth factors receptors as targets for the development of antiangiogenesis strategies // Curr. Pharm. Des. 2007. V. 13 (20). P. 2025–2044.
237. Salomon J., Weinstein M., Hammitt J., Goldie S. Empirically calibrated model of hepatitis C virus infection in the United States // Am. J. Epidemiol. 2002. V. 156. P. 761-773.
238. Sandler N.G., Mentink-Kane M.M., Cheever A.W., Wynn T.A. Global gene expression profiles during acute pathogen-induced pulmonary inflammation reveal divergent roles for Thl and Th2 responses in tissue repair // J. Immunol. 2003. V. 171, N 7. P. 3655-3667.
239. Sandrin L., Fourquet B., Hasquenoph J. M. [et al.] Transient elastography: a new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis // Ultrasound Med. Biol. 2003. V. 29, N 12. P. 1705-1713.
240. Sawicki G. [et al.] Interaction of keratinocytes and fibroblasts modulates the expression of matrix metalloproteinases-2 and -9 and their inhibitors // Mol. Cell. Biochem. 2005. V. 269, N 1. 2. P. 209–216.
241. Shepard C. W., Finelli L., Alter M. J. Global epidemiology of hepatitis C virus infection // Lancet Infect Dis. 5. 2005. P. 558–567.
242. Shiratori Y., Ito Y., Yokosuka 0., [et.al.] Antiviral therapy for cirrhotic hepatitis C: Association with reduced hepatocellular carcinoma development and improved siirvival // Ann. Intern. Med. 2005. V. 142. P.105-1014.
243. Scott L., Friedman S.L. Cytokines and Fibrogenesis // Seminars in Liver Disease. 1999. V. 19, N 2. P. 129-140.
244. Skeda U., Shimada K. Matrix metalloproteinases and coronary artery diseases // Clin. Cardiol. 2003. N 26. P. 55–59.
245. Sochor M., Richter S, Schmidt A. [еt al.] Inhibition of matrix metalloproteinase-9 with doxycycline reduces pancreatitisassociated lung injury // Digestion. 2009. V. 80 (2). P. 65–73.
246. Sogni P., Salmon-Ceron D., Dodevin P. Management of cirrhosis com­plications in HIV patients coinfected with hepatitis В or С virus // La Presse Medi­caid. 2005. V. 34, N 20. P. 1579-1583.
247. Steffensen В., Wallon U.M., Overall C.M. Extracellular matrix binding properties of recombinant fibronectin type 11-like modules of human 72-kDa gela-tinase/type IV collagenase. High affinity binding to native type I collagen but not native type IV collagen // J. Biol. Chem. 1995. V. 270. P. 11555-11566.
248. Sternlicht M.D., Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior // Аnnu. Rev. Cell. Dev. Biol. 2001. V. 17. P. 463–516.
249. Tang Y., Kesavan P., Nakada M., Yan L. Tumor-stroma interaction: positive feedback regulation of extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) expression and matrix metalloproteinasedependent generation of soluble EMMPRIN // Mol. Cancer Res. 2004. V. 2. P. 73–80.
250. Thampanitchawong P., Piratvisuth T. Liver biopsy: complications and risk factors // World J. Gastroenterol. 1999. N 5. P. 301-304.
251. Thomson A., Lotze M. The Cytokine Handbook. 4-th Edition. Two Volume Set (Hardcover). Orlando: Academic Press, 2003. P. 785–806
252. Troeberg L, Nagase H. Analysis of TIMP expression and activity // Methods Mol. Med. 2007. V. 135. P. 251–267.
253. Tsai J.F., Jeng J.E., Chuang L.Y. [et al.] Urinary transforming growth factor betal levels in hepatitis C virus- related chronic liver disease: correlation between high levels and severity of disease // Hepatology. 1997. V. 25. P. 1141-1146.
254. Ueno T., Tamaki S., Sugawara H. [et al.] Significance of serum tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in various liver disease // J. Hepatol. 1996. V. 24. P.177-184.
255. Vaillant В., Chiaramonte M.G., Cheever A.W. [et al.] Regulation of hepatic fibrosis and extracellular matrix genes by the Th response: New insight into the role of tissue inhibitors of matrix metalloproteinases // Immunol. 2001. V. 167, N 12. P. 7017-7026.
256. Van den Steen Ph. [et al.] Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) // Critical. Reviews in Biochem. and Molec. Biology. 2002. V. 37, N 6. P. 375–536.
257. Varga F., Rumpler M., Spitzer S. [et al.] Osteocalcin attenuates T3- and increases vitamin D3-induced expression of MMP-13 in mouse osteoblasts // Endocr. J. 2009. V. 56 (3). P. 441–450.
258. Veldt B.J. Heathcote E.J., Wedemeyer I.L., Reichen J., Hofmann W.P., Zeuzem S., Manns M.P. [et al.] Sustained virologic response and clinical outcomes in patients with chronic hepatitis С and advanced fibrosis // Ann. Intern. Med. 2007. V. 147. P. 677-684.
259. Visse R. Matrix, Nagase H. Metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemitry // Circulation Res. 2003. N 2. P. 827–839.
260. Wahl L. [et al.] Inhibition of phospholipase activity in human monocytes by IFN-y blocks endogenous prostaglandin E2-dependent colagenase production // Immunol. 1990. N 144. P. 3518–3522.
261. Webster N.L., Crowe S.M. Matrix metalloproteinases, their production by monocytes and macrophages, and their potential role in HIV-related diseases // J. Leukocyte Biology. 2006. V. 80. P. 1–15.
262. Wells R.G., Kruglov E., Dranoff J.A. Autocrine release of TGF-beta by portal fibroblasts regulates cell growth // FEBS Lett. 2004. V. 559 (1-3). P. 107-110.
263. Woessner J.F. MMPs and TIMPs – an historical perspective // Mol. Biotechnol. 2002. V. 22 (1). P. 33–49.
264. Wynn T.A. Common and unique mechanisms regulate fibrosis in various fibroproliferative diseases // J. Clin. Invest. 2007. V. 117, N 3. P. 524-529.
265. Yan L., Zucker S., Toole B.P. Roles of the multifuntionalglicoprotein, EMMPRIN (basigin, CD 147), in tumor progression // Thromb Haemost. 2005. V. 93. P. 199–204.
266. Zhang B.B., Cai W.M., Weng H.L. [et al.] Diagnostic value of platelet derived growth factor-BB, transforming growth factor-p1, matrix metalloproteinase-1, and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in serum and peripheral blood mononuclear cells for hepatic fibrosis // World J. Gastroenterol. 2003. V. 9 (11). P. 2490–2496.
267. Ziol M., Handra-Luca A., Kettaneh A. [et al.] Non-invasive assessment of liver fibrosis by stiffness measurement: a prospective multicentre study in patients with chronic hepatitis С // Hepatology. 2005. V. 41, N 1. P. 48-54.
268. Ziol M., Barget N., Sandrin L. [et al.] Correlation between liver elasticiy measured by transient elastography and liver fibrosis assessed by morphometry in patientswih HCV chronic hepatitis // J. Hepatol. 2004. V. 40 (Suppl. 1). P.136.
269. Zucker S., Hymowitz M., Rollo E.E. [et al.] Tumorigenic potential of extracellular matrix metalloproteinase inducer // Am. J. Pathol. 2001. V. 158. P. 1921–1928.