

ДИНАМИКА ГЕПАТОФИБРОЗА И АНГИОГЕНЕЗА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С НА ФОНЕ ПРОТИВОВИРУСНОЙ ТЕРАПИИ

Булатова И.А.

ГБОУ ВПО Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е.А. Вагнера Минздрава России, Пермь, Россия (614090, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26), psmalf@ru

Цель исследования: исследовать динамику цитолиза, процессов ангиогенеза, регенерации гепатоцитов, гепатофиброза и вирусологический ответ на фоне противовирусной терапии (ПВТ) у больных хроническим гепатитом С (ХГС). Обследовано 50 больных ХГС. В сыворотке крови оценивали уровень трансаминаз, концентрацию васкулоэндотелиального фактора роста (ВЭФР) и альфа-фетопротейна (АФП), уровень вирусной нагрузки, определяли степень выраженности фиброза методом фиброзэластографии. До начала ПВТ у всех больных ХГС в сыворотке крови выявлено увеличение уровня трансаминаз, концентрации ВЭФР ($p=0,001$) и АФП ($p=0,001$) по сравнению с контрольной группой. Плотность печени у больных ХГС до начала ПВТ в среднем составила 9,5 кПа (от 3,5 до 63,9 кПа). После проведенной ПВТ у 74 % больных ХГС снизился уровень трансаминаз, уменьшилась концентрация ВЭФР ($p<0,001$), произошло перераспределение больных ХГС с разной степенью гепатофиброза и уменьшение плотности печени в среднем до 6,17 кПа (3,3 – 13,6 кПа) ($p<0,05$). Достоверных изменений уровня АФП у пациентов с ХГС на фоне ПВТ не наблюдалось ($p=0,5$). Непосредственный вирусологический ответ составил 90 %. При ХГС в фазе реактивации имеется повреждение эндотелия, усиление процессов ангиогенеза и регенерации гепатоцитов. Комбинированная ПВТ при ХГС приводит к уменьшению цитолиза гепатоцитов, снижению активности неоангиогенеза и улучшению эластографических показателей печени.

Ключевые слова: васкулоэндотелиальный фактор роста, альфа-фетопротейн, гепатофиброз, синдром цитолиза, хронический гепатит С.

THE DYNAMICS OF HEPATOFIBROSIS AND ANGIOGENESIS IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C ON THE BACKGROUND OF ANTIVIRAL THERAPY

Bulatova I.A.

SBEI HPE Perm State Medical Academy named after ac. E.. Wagner, Health Ministry of Russia, Russia, Perm, (614090, Perm, Petropavlovskaya street, 26), psmalf@ru

Aim of the study was to investigate the dynamics of cytolysis, the process of angiogenesis, regeneration of hepatocytes, the dynamics of hepatofibrosis and virologic response on the background of antiviral therapy (AVT) in patients with chronic hepatitis C (CHC). **Material and methods.** 50 patients with CHC were examined. Serum levels of transaminases, the concentration of vascular endothelial growth factor (VEGF) and alpha-fetoprotein (AFP), the viral load was investigated, the severity of fibrosis was detected by fibroelastography. **Results.** Before the employment of AVT the increased serum level of transaminases and the increased concentration of VEGF ($p=0,001$) and AFP ($p=0,001$) in comparison with the following group were detected. The density of the liver in patients with CHC before AVT was at the average 9,5 kPa (from 3,5 to 63,9 kPa). After the employment of AVT in 74 % cases the level of transaminases decreased as well as the concentration of VEGF ($p<0,001$), redistribution of patients with CHC with different degree of hepatofibrosis and the reduction of the density of the liver at the average to 6,17 kPa (3,3 – 13,6 kPa) ($p<0,05$) took place. No significant changes of the level of AFP in patients with CHC on the background of AVT were observed ($p=0,5$). The immediate virologic response came to 90 %. **Conclusion.** At the reactivation phase of CHC we observe endothelial damage, growing process of angiogenesis and regeneration of hepatocytes. Combined AVT leads to decrease in cytolysis of hepatocytes, reduction of neoangiogenesis activity and to an improvement in liver's elastographic rates.

Keywords: vascular endothelial growth factor, alpha-fetoprotein, hepatofibrosis, syndrome of cytolysis, chronic hepatitis C.

Изучение механизмов патогенеза гепатофиброза, совершенствование диагностики и повышение эффективности терапии хронических вирусных заболеваний печени представляет собой наиболее актуальные проблемы современной гепатологии. Сегодня не существует единой теории патогенеза хронического гепатита С (ХГС). В патогенезе ХГС и

прогрессировании его в цирроз печени большое значение имеет нарушение внутрипеченочной гемодинамики, что может быть связано с повреждением эндотелиальной выстилки печеночных синусоидов непосредственно вирусом [3]. Процессы прогрессирования поражения печени, в частности, неоангиогенез и фиброз в печени, в свою очередь, связаны с функциональной состоятельностью эндотелия [10]. Для поражений печени вирусного генеза характерно повышение показателей ангиогенеза и пролиферативной активности гепатоцитов [5]. Установлено, что выраженный гепатофиброз снижает эффективность и уменьшает частоту достижения устойчивого вирусологического ответа комбинированной противовирусной терапии (ПВТ) [4]. Последнее десятилетие свидетельствует о достижении высоких результатов в области лечения ХГС. Основываясь на данных масштабных клинических исследований, можно утверждать, что при 2 и 3 генотипах HCV при применении пегилированного интерферона- α (Пег-ИФН- α) и рибавирина в течение 24 недель частота стойкого вирусологического ответа составляет 67–88 %, в то время как при 1 генотипе HCV – 39–48 % [1, 8, 9]. Клиническая Российская практика свидетельствует о более высоких результатах ПВТ. Так, согласно Российскому опыту ПВТ Пег-ИФН- α в дозе 1,5 мкг/кг/нед и рибавирином 800–1200 мг/сут частота стойкого вирусологического ответа среди всех больных составляет 85 %, при 1 генотипе – 76 %, а при 2 и 3 генотипах – 88 %, что значительно выше, чем в регистрационных исследованиях. Показано, что эластографические показатели улучшаются в ходе ПВТ, особенно при быстром вирусологическом ответе [2, 6]. Терапия ланффероном в комбинации с рибавирином приводит по некоторым данным к элиминации HCV у 76 % пациентов с генотипами 1 и 3 [7].

Цель исследования – исследовать динамику цитолиза, процессов ангиогенеза, регенерации гепатоцитов, гепатофиброза и непосредственный вирусологический ответ на фоне противовирусной терапии (ПВТ) у больных хроническим гепатитом С (ХГС).

Материал и методы исследования. Под наблюдением находились 50 пациентов с ХГС в фазе реактивации, получающие комбинированную противовирусную терапию в течение 24–48 недель. Средний возраст больных составил $36,8 \pm 7,9$ лет, из них 21 мужчин и 29 женщин. Этиологическая верификация диагноза проводилась качественным и количественным определением в крови у пациентов РНК HCV с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), а также серологических маркеров HCV. По генотипу HCV пациенты с ХГС разделились следующим образом: генотип 1 определен у 48 % больных (24 человека), генотип 2 – у 12 % (6 пациентов) и с 3 генотипом – 40 % (20 больных). Сопоставимая по полу и возрасту контрольная группа включала 20 практически здоровых лиц, не имеющих заболеваний печени. Исследование уровня аланиновой и аспарагиновой трансаминаз (АЛТ, АСТ) в сыворотке крови проводили на автоматическом биохимическом анализаторе

«Architect-4000» (США). В качестве теста регенерации гепатоцитов оценивали уровень альфа-фетопротеина (АФП) иммунохемилюминисцентным методом с помощью набора "AFP" (Siemens) на анализаторе «Immolute-1000» (Германия). В качестве маркера процессов ангиогенеза оценивали концентрацию васкулоэндотелиального фактора роста (ВЭФР) в сыворотке крови методом ИФА с помощью набора «VEGF» ЗАО «Вектор-Бест» и планшетного фотометра «Stat-Fax-2100» («Awareness Technology Inc.», США). Стадию фиброза печени оценивали методом фиброэластографии на приборе «Fibroscan-502» (Echosens (Франция) до начала лечения и через 12 месяцев с измерением индекса эластичности в кПа и оценкой стадии фиброза по шкале «METAVIR». По результатам фиброэластометрии при первичном обследовании у 18 (36 %) больных ХГС не выявлен гепатофиброз (до 7 кПа), минимальный F1(7,1-8,7 кПа) регистрировался у 12 (24 %) человек, умеренный F2 (8,5-9,5 кПа) – у 10 (20 %) пациентов, выраженный фиброз F3 (9,5-14,5 кПа) – у 6 (12 %) и F4 (более 14,5 кПа) – у 4 (8 %) больных.

В качестве ПВТ 10 больных ХГС получали Пег-ИФН- α подкожно в дозе 1,5 мкг/кг/нед при 1 генотипе HCV – 48 недель, при 2 и 3 HCV – 24 недели. У 20 пациентов в качестве ПВТ применялся альтевир, а 20 больных получали лайфферон внутримышечно через день по 3 млн. Ед. в течение 24 недель при 2 и 3 генотипах, и 48 недель при 1 генотипе. Все пациенты с ХГС в качестве комбинированного препарата получали рибавирин в капсулах по 200 мг по 2 раза в день с интервалом 12 часов (800–1600 мг/сут в зависимости от массы тела).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica 7.0 (StatSoft). Проверку распределения результатов проводили по критерию Колмогорова – Смирнова. Для описания полученных количественных признаков данные представляли в виде медианы (Me) и 25 и 75 перцентиля. Так как распределение показателей в основном отклонялось от нормального, для оценки значимости различий независимых групп использовали непараметрический критерий Манна – Уитни. Различия между выборками считались достоверными при значении для $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

С учетом биохимических показателей крови у пациентов с ХГС был выявлен синдром цитолиза, который характеризовался увеличением активности трансаминаз в сыворотке крови. Концентрация АФП, как компонента репаративных процессов в гепатоцитах, у больных ХГС также была достоверно выше, чем в контрольной группе ($p=0,001$). Значимое увеличение уровня ВЭФР при ХГС свидетельствует об активации неоангиогенеза в печени на фоне повреждения эндотелия вирусом. У пациентов с ХГС медиана концентрации ВЭФР в сыворотке почти в 5 раз превышала уровень показателя в группе контроля ($p=0,001$) (табл.

1). Плотность печени у больных ХГС до начала ПВТ в среднем составила 9,5 кПа (от 3,5 до 63,9 кПа).

Таблица 1

Исследуемые показатели в сыворотке крови больных ХГС до начала ПВТ, через 1 год и в контрольной группе; Ме (25–75 перцентиль)

| Показатели | Контрольная группа | ХГС до начала ПВТ | ХГС через 1 год | p1 | p2 | p3 |
|-------------|--------------------|-------------------|-----------------|--------|--------|-------|
| АЛТ, Е/л | 15,0(12-19) | 58,5(34-96) | 18,1(14-32,9) | <0,001 | <0,001 | 0,003 |
| АСТ, Е/л | 20,0(18-24) | 34,5(26-51) | 24,5(18-31,5) | <0,001 | 0,03 | 0,003 |
| АФП, МЕ/мл | 1,22(0,9-1,59) | 2,09(1,71-2,68) | 1,8(1,64-2,35) | 0,001 | 0,5 | 0,01 |
| ВЭФР, пг/мл | 77(6,6-138) | 382,2(269-622) | 247(138-461) | 0,001 | <0,001 | 0,01 |

Примечание: p1 – значимость различий в группе контроля и ХГС до лечения; p2 – значимость различий в группах с ХГС до ПВТ и через 1 год; p3 – значимость различий в группе контроля и в группе ХГС через 1 год.

На фоне комбинированной ПВТ у 74 % (37 человек) больных ХГС уровень трансаминаз снизился до нормальных значений: медиана концентрации АЛТ в сыворотке крови после ПВТ в 3 раза снизилась в сравнении с фазой реактивации ($p < 0,001$), а медиана значений АСТ понизилась почти в 1,5 раза в сравнении с фазой реактивации ($p = 0,03$). Однако у 26 % (13 человек) пациентов с ХГС после ПВТ уровни трансаминаз оставались повышенными, хотя и у них отмечалась положительная динамика в сторону уменьшения выраженности синдрома цитолиза. В целом в группе с ХГС после ПВТ медианы концентраций АЛТ и АСТ все же оставались выше, чем в группе контроля ($p = 0,003$ и $p = 0,003$ соответственно) (табл. 1). Таким образом, комбинированная ПВТ при ХГС сопровождается уменьшением цитолиза гепатоцитов. Достоверных изменений уровня АФП как маркера регенерации гепатоцитов у пациентов с ХГС на фоне ПВТ не наблюдалось ($p = 0,5$) (табл. 1).

В ходе ПВТ у всех больных ХГС было зарегистрировано достоверное снижение концентрации ВЭФР в среднем в 1,5 раза ($p < 0,001$), что свидетельствует о снижении активности процессов неоангиогенеза и уменьшении повреждения эндотелия, хотя о полной нормализации этих механизмов речь не идет, так как у больных после ПВТ остаются отличия от здоровых ($p = 0,01$) (табл. 1).

Плотность печени у больных ХГС до начала ПВТ в среднем составила 9,5 кПа (от 3,5 до 63,9 кПа). На фоне комбинированной ПВТ отмечено перераспределение больных ХГС с разной степенью гепатофиброза и уменьшение плотности печени в среднем до 6,17 кПа (3,3 – 13,6 кПа) ($p < 0,05$), наиболее вероятно за счет снижения степени фиброза (табл. 2). Нельзя, наверное, исключить вклад уменьшения некроза (снижение АЛТ и АСТ) в улучшении показателей плотности печени.

Динамика гепатофиброза у больных ХГС на фоне ПВТ по данным фиброэластографии

| Стадия гепатофиброза | До начала ПВТ | Через 1 год |
|-------------------------------|----------------------|------------------------|
| Средняя плотность печени, кПа | 9,5 (от 3,5 до 63,9) | 6,17 (от 3,3 до 13,6)* |
| F0 | 18 | 37 |
| F1 | 12 | 5 |
| F2 | 10 | 6 |
| F3 | 6 | 2 |
| F4 | 4 | 0 |

* – различия достоверны.

Непосредственный вирусологический ответ, то есть авиремия к моменту завершения лечения у больных ХГС составила 90 %. У 5 (10 %) пациентов ПВТ оказалась неэффективной, из которых 4 больных получали «Лайфферон» (2 человека с 1 HCV, 1 больной со 2 генотипом и 1 с 3 HCV) и 1 пациент с 3 генотипом получал «ПегИнtron». Таким образом, эффективность ПВТ при 1 HCV составила 92 %, при 2 генотипе равнялась 84 %, а при 3 генотипе HCV – 90 %.

Выводы

1. У больных ХГС в фазе реактивации имеется повреждение эндотелия, усиление регенерации гепатоцитов и процессов неоангиогенеза в печени на фоне вирусного поражения гепатоцитов.
2. Комбинированная ПВТ при ХГС сопровождается уменьшением цитолиза гепатоцитов.
3. Проведение комбинированной ПВТ при ХГС приводит к уменьшению активности процессов неоангиогенеза и повреждения эндотелия.
4. В ходе ПВТ хронической HCV-инфекции происходит улучшение эластографических показателей, что позволяет в очередной раз подтвердить антифибротический эффект ПВТ.
5. Эффективность комбинированной ПВТ у больных ХГС при оценке непосредственного вирусологического ответа в среднем составляет 90 %.

Список литературы

1. Бакулин И.Г., Сандлер Ю.Г., Шарабанов А.С. Гематологические нежелательные явления при проведении противовирусной терапии у больных хроническим гепатитом С // Гепатологический форум. Приложение к журналу Клиническая фармакология и терапия. – 2011. – № 4. – С. 2-14.

2. Бурневич Э.З. Новости гепатологии по материалам 42 конференции Европейского общества по изучению печени // Гепатологический форум. Приложение к журналу Клиническая фармакология и терапия. – 2007. – № 3. – С. 29-32.
3. Звягинцева Т.Д., Гриднева С.В. Современные представления о сосудистом эндотелии в норме и при патологии желудочно – кишечного тракта // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2005. – № 4. – С. 6–12.
4. Павлов Ч.С., Ивашкин В.Т., Маевская М.В. Влияние показателей индекса гистологической активности и степени фиброза печени на эффективность противовирусной терапии хронического гепатита С Пг-интерфероном-2α и рибавирином // Материалы Двенадцатой Российской конференции: Гепатология сегодня. 19–21 марта 2007. – Рос. Журнал гастроэнтер., гепатол., колопроктол. – 2007. – Т. 17. – № 1 (29). – С. 37.
5. Павлов Ч.С., Шутьпекова Ю.О., Золотаревский В.Б., Ивашкин В.Т. Современные представления о патогенезе, диагностике и лечении фиброза печени // Рос. Журнал гастроэнтер., гепатол., колопроктол. – 2005. – № 2. – С. 13-20.
6. Пирогова И.Ю. Скорость регресса фиброза печени после успешной противовирусной терапии при хронической HBV-и HCV-инфекции // Материалы XIX Российского конгресса «Гепатология сегодня». – 2014. – С. 30.
7. Серебряков М.Ю., Тищенко М.С., Серебряков Д.Ю. Лайфферон и рибавирин липинт в терапии больных с хроническим вирусным гепатитом С // Материалы XIX Российского конгресса «Гепатология сегодня». – 2014. – С. 32.
8. Desmond C.P., Roberts S.K., Dudley F. Sustained virological response rates and durability of the response to interferon-based therapies in hepatitis C patients treated in the clinical setting // J. Viral. Hepat. – 2006. – Vol. 13. – P. 311-315.
9. Hadziyannis S.J., Sette H.J., Morgan T.R. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose // Ann. Intern. Med. – 2004. – Vol. 140. – P. 346-355.
10. Wynn A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis // J Pathol. – 2008. – Vol. 21(4). – P. 199–207.

Рецензенты:

Устинова О.Ю., д.м.н., профессор, заместитель директора по лечебной работе ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь.

Юшкова Т.А., д.м.н., профессор кафедры фармакологии ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия», г. Пермь.