

Противофибротический эффект препарата Бициклол у пациентов с хроническим вирусным гепатитом В (сравнительное биохимически-гистологическое исследование).

YI Jianhua, LI W ei, XIONG Ying et al.

Department of Infectious Diseases, Union Hospital. Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

Абстракт.

Цель. Изучить противофибротический эффект Бициклола при хроническом вирусном гепатите В.

Методы. В исследовании принимали участие 20 пациентов с верифицированным диагнозом «хронический вирусный гепатит В». Все они получали в качестве монотерапии препарат Бициклол, производства Beijing Union Pharmaceutical Factory, в течение 6 месяцев. Контрольные показатели воспалительной активности, такие как АЛТ, ГГТ, а также сывороточные маркеры фиброза, такие как **ламинин (LN), коллаген IV (С-IV), аминотерминальный пропептид преколлагена типа III (РШР) и гиалуриновая кислота (ГК)** определялись перед началом и после окончания терапии. Всем пациентам перед началом лечения и после его окончания проводилась **пункционная биопсия печени.**

Результаты. После окончания 6-месячного курса монотерапии Бициклолом у пациентов с ХГВ отмечалось существенное снижение сывороточных уровней АЛТ, ГГТ, LN, С-IV, РШР. Сывороточный уровень маркеро фиброза - **С-IV и РШР** находился в прямой пропорциональной зависимости от степени фиброза печени ($r = 0,653$ и $r = 0,53$, соответственно, $P < 0,01$).

Выводы. Бициклол эффективен при ХГВ ассоциированном фиброзе печени.

Ключевые слова. Бициклол, Фиброз печени, ХГВ, Биопсия печени.

Фиброз печени – ранняя стадия прогрессирования различных заболеваний печени в цирроз. Это также и основной патологический базис развития цирроза. В последнее время установлено, что фиброз печени является обратимым процессом и превентивные меры, направленные на предотвращение прогрессирования фиброза являются, таким образом, превентивными мерами по предотвращению развития цирроза.

Бициклол – инновационный препарат для лечения хронических вирусных гепатитов, обладает мощным гепатопротекторным и умеренным противовирусным эффектом. Механизм действия Бициклола реализуется благодаря связыванию свободных радикалов и сохранению целостности мембраны клетки, протекции мембран митохондрий, защиты ядерной ДНК от фрагментации. Кроме того, Бициклол может ингибировать секрецию HbsAg и HBeAg, а также репликацию HBV DNA. И что особенно ценно, то что Бициклол оказывает противофибротический эффект при хроническом вирусном гепатите.

Предмет исследования и методы.

Пациенты. В исследовании принимали участие 20 пациентов с верифицированным диагнозом «хронический вирусный гепатит В» (в соответствии с диагностическими критериями 10-го симпозиума по вирусным гепатитам и заболеваниям печени. Критериями включения были: активность сывороточной АЛТ в пределах 1,5 – 10 норм; общий билирубин ≤ 50 мкмоль/л; HBsAg (+), HBV DNA (+). Критерии исключения: коинфицированы другими гепатотропными вирусами (HAV, HCV, HDV, HEV), ВИЧ; декомпенсация функций печени, асцит, кровотечение из варикозно расширенных вен пищевода, печеночная энцефалопатия (в т.ч. в анамнезе); любые состояние, требующие назначения глюкокортикоидов: аутоиммунный гепатит, лекарственно-индуцированный гепатит, алкогольная болезнь печени. До и во время проведения эксперимента не использовались препараты интерферонов, нуклеозидных аналогов, тимозина. Каждый пациент подписывал информированное согласие.

Средний возраст пациентов составлял 36 лет (16 – 56); 18 мужчин и 2 женщины.

Методы. Бициклол в дозе 25 – 50 мг на прием (для пациентов с активностью АЛТ < 5 норм по 25 мг; при АЛТ > 5 норм – по 50 мг), назначался трижды в сутки в течение 6 месяцев.

Тестирование печеночных функций (общий билирубин, АЛТ, ГГТП, альбумин), определение сывороточных маркеров HBV DNA проводилось перед началом лечения, затем через 3 и 6 месяцев, соответственно. Биопсия печени (чрескожная пункция с использованием биопсийного

«пистолета» с треугольной иглой) производилась перед лечением и по окончании лечения всем пациентам. Серологические маркеры фиброза печени, такие как ламинин (LN), коллаген IV (C-IV), аминоктерминальный пропептид преколлагена типа III (P11P) и гиалуриновая кислота (ГК) определялись перед началом и после окончания терапии.

Лабораторное обеспечение. Печеночные тесты проводились на автоматическом биохимическом анализаторе. Сывороточные маркеры HBV определялись методом ELISA, количественное определение HVB DNA – методом ПЦР, LN, C-IV, P11P и ГК - методом ELISA с реагентами, предоставленными Шанхайским Медицинским исследовательским институтом Naval.

Гистологическое исследование.

Образцы печеночной ткани, зафиксированные 10% р-ром формальдегида, заливались парафином, производились серийные срезы, окраска производилась ГЭ и Masson, оценивались под световым микроскопом в соответствии с системой «полуколичественная система оценки степени воспалительной активности и фиброза при хронических вирусных гепатитах».

Статистический анализ.

Статистическая обработка полученных данных с помощью программного обеспечения 10,0 SPSS. Односторонний анализ вариаций использовался для оценки показателей печеночных функций, а парный t-тест – для оценки серологических маркеров фиброза и гистологических показателей степени воспалительной активности и фиброза печени.

Результаты.

1. Показатели печеночных функций до и после лечения.

Частота нормализации активности АЛТ и ГГТ составила 95% и 70% соответственно. (таб.1)

Таб.1 Показатели печеночных функций до и после лечения (x±s)

Сроки	АЛТ(Ед/л)	ГГТ(Ед/л)	Альбумин (г/л)	Общий билирубин (мкмоль/л)
До лечения	128.8±70.3	95.7±37.9	40.6±4.6	17.8±6.7
3-ий месяц	62.0±36.5	80.6±44.9	41.2±3.6	17.4±6.4
6-й месяц	31.9±13.4*	46.9±16.5*	41.3±3.3	14.5±2.9

* P<0.05 vs до лечения

2. Изменения серологических маркеров фиброза печени до и после лечения.

Уровни LN, C-IV, P11P достоверно снизились на фоне терапии Бициклолом. (Таб.2)

Таб.2. Серологические маркеры фиброза печени до и после лечения

Сроки	LN(ng/ml)	C-IV(ng/ml)	P11P(ng/ml)	ГК(ng/ml)
До лечения	136.15±21.15	118.7±79.8	26.66±23.18	139.7±99.9
После лечения	93.25±20.34*	80.3±57.1*	17.64±13.27*	113.6±108.4

* P<0.05 vs до лечения

3. Степень воспалительной активности и фиброза до и после лечения.

В образцах биоптатов, окрашенных ГЭ наблюдались: нормальные печеночные дольки с точечными (пятнистыми) некрозами и стеатозом части гепатоцитов, расширение портальной зоны со скоплением коллагена и воспалительной инфильтрацией в зонах некрозов и портальной зоне. Кроме того, отмечалась гиперплазия фиброзной соединительной ткани на протяжении от портальной зоны до перилобулярных участков, но без формирования ложных долек.

В образцах, окрашенных ГЭ и Masson выделялись 5 стадий фиброза. 0 стадия – фиброза нет; ст. 1 – портальный фиброз, перисинусоидный и перипортальный фиброз; ст. 2 – перипортальный фиброз с формированием мостовидных фиброзов; ст. 3 – мостовидный фиброз с разрушением долек, без ложных долек; ст. 4 – формирование ложных долек.

На фоне терапии Бициклолом отмечалось улучшение показателей как степени воспалительной активности, так и фиброза: уменьшение скопления коллагена, гиперплазии соединительной ткани и воспалительной инфильтрации (рис. 1 – 6).

По суммарной балльной оценке степени воспалительной активности и фиброза у 20 обследованных пациентов были зафиксированы следующие положительные изменения после терапии Бициклолом: суммарная воспалительная активность после лечения ($1,85 \pm 0,67$) была достоверно ниже, чем до лечения ($2,5 \pm 0,61$), $P < 0,001$. Суммарная степень фиброза печени после лечения также достоверно уменьшилась по сравнению с исходным уровнем: $0,90 \pm 0,64$ vs. $1,35 \pm 0,49$ до лечения, $P < 0,009$.

4. Корреляция между серологическими маркерами и гистологическими признаками фиброза.

Уровни С – IV и РШР были прямо пропорциональны степени фиброза, установленной гистологически ($r = 0.653$, $r = 0.530$), $P < 0.01$ для обоих показателей.

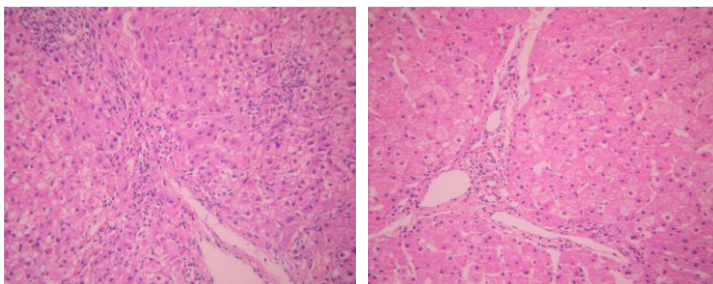
Обсуждение. Множество причин могут вызвать повреждение клеток печени, индуцировать дегенерацию, некроз и воспаление, а также дисбаланс между патологической пролиферацией и разрастанием соединительной ткани, результатом чего является фиброз ткани печени, который, в свою очередь, является характерным признаком многих заболеваний печени и обязательным условием формирования цирроза. Как показывают многочисленные исследования, основной путь возникновения фиброза заключается в активации звездчатых (stellatных) клеток печени, их пролиферации и секреции ими большого количества внеклеточного матрикса, который накапливается в ткани печени и в итоге приводит к фиброзированию. При устранении повреждающего фактора, активированные stellatные клетки, тем не менее, продолжают свою «деятельность», поэтому при лечении фиброза печени следует добиваться блокирования и обратного развития на фоне устранения причины.

Повышение активности АЛТ при заболеваниях печени происходит в результате увеличения проницаемости клеточной мембраны гепатоцитов или их некроза, что приводит к высвобождению интрацеллюлярных энзимов. Поэтому уровень ферментемии коррелирует с тяжестью некротических изменений в печени. Повышение сывороточной ГГТ является результатом усиленного синтеза этого фермента в печени в ответ на воспаление, поэтому на фоне адекватной терапии его активность соответственно уменьшается. Постоянно повышенный уровень ГГТ может указывать на цирроз печени. Продолжительный мониторинг активности ГГТ может быть полезен в оценке активности заболевания, лечебного эффекта и прогноза при хроническом вирусном гепатите.

Существуют сывороточные маркеры фиброза печени, использование которых в клинической практике целесообразно в связи с атравматичностью, простотой определения и возможностью длительного мониторинга. Ламинин (LN), коллаген (С-IV), аминотерминальный пропептид (РШР) и гиалуриновая кислота (ГК) – наиболее хорошо изученные маркеры. LN и С-IV – основные составляющие базальной мембраны. В норме они присутствуют в печеночной ткани в минимальных количествах. При активации stellatных клеток LN и С-IV секретируются в больших количествах, что приводит к капилляризации синусоидов. Соответственно, повышаются и сывороточные уровни указанных маркеров фиброза. В настоящее время С-IV считается самым ранним серологическим признаком, отражающим процессы синтеза коллагена, РШР также отражает синтез коллагена в печени, кроме того, его уровень в сыворотке коррелирует со степенью фокального некроза гепатоцитов, воспаления и фиброза в лобулах. Гиалуриновая кислота – полисахарид интрацеллюлярного матрикса. Она характеризуется быстрой пролиферацией и медленным разрушением в ткани фибротизированной печени, что приводит к повышению ее сывороточного уровня. Степень повышения уровня ГК в сыворотке положительно коррелирует со степенью фиброза в ткани печени. В настоящем исследовании мы доказали положительную корреляцию между уровнем С-IV и РШР и степенью фиброза.

Повреждение гепатоцитов – обязательное условие фиброза печени. Оно также приводит к паракринной активации stellatных клеток. Поэтому защита гепатоцита от повреждения является важным звеном предотвращения фиброирования печени. Настоящее исследование

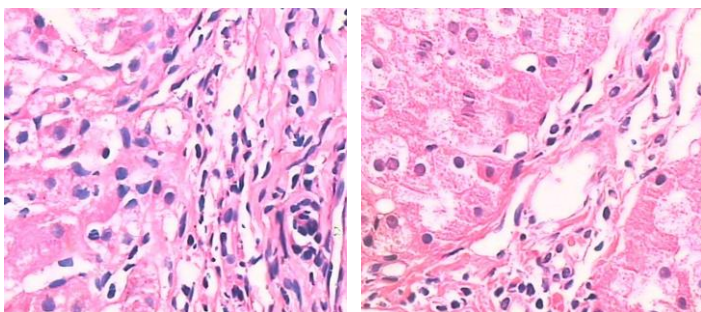
доказало, что Бициклол может редуцировать воспалительную реакцию в печени при ХГВ, защищать гепатоцит от разрушения, уменьшать синтез и выработку внеклеточного матрикса и способствовать деградации и абсорбции коллагена. Однако в силу относительно небольшого числа пациентов, полученные данные требуют дальнейшего подтверждения.



双环醇治疗后

До лечения

Тот же пациент после лечения
(ГЭ x 20)

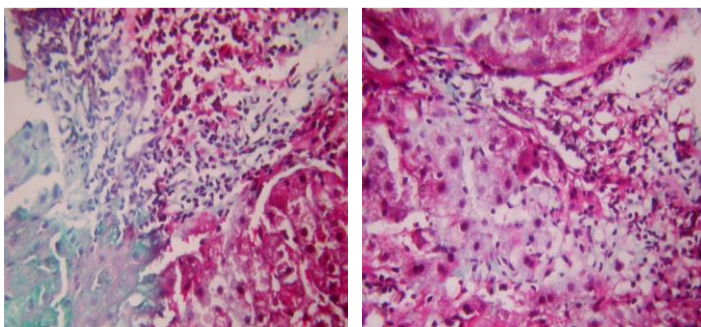


双环醇治疗前

双环醇治疗后

До лечения

Тот же пациент после лечения
(ГЭ x 40)



双环醇治疗前

双环醇治疗后

До лечения

Тот же пациент после лечения
(Masson x 40)