

На правах рукописи

ПОДГОРНОВА ДИНА ВЛАДИМИРОВНА

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ
ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С
НА ФОНЕ ОПИЙНОЙ НАРКОМАНИИ**

14.01.04 – внутренние болезни

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Томск – 2010

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Белобородова Екатерина Витальевна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор Тетенев Федор Федорович

доктор медицинских наук

Бородулина Елена Валентиновна

Ведущая организация: Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Иркутский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации»

Защита состоится «___» _____ 2011 года в «___» часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.02 при Сибирском государственном медицинском университете по адресу: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в научной медицинской библиотеке Сибирского государственного медицинского университета.

Автореферат разослан «___» _____ 201__ года.

Ученый секретарь

диссертационного совета

Тюкалова Л. И.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. В современном мире перед здравоохранением встала колоссальная проблема широкого распространения среди населения HCV-инфекции. Для хронического вирусного гепатита С характерна скрытая интенсивная циркуляция возбудителя, что приводит к формированию труднодиагностируемых бессимптомных вариантов инфекции, прогрессирование которых обуславливает после клинически латентного периода различной длительности, терминальное поражение печени [Абдукадырова М. А., 2002; Соринсон С. Н., 1998; Хаитов Р. М., 2001].

В настоящее время до 90% молодежи, инфицированной HCV-инфекцией, заболевают путем инъекционной наркомании. Сформировано понятие о наркозависимом эпидемиологическом процессе при хроническом вирусном гепатите С. Вызывающие гепатиты вирусы выявляются у больных наркоманией и нередко в комплексе с токсическим влиянием опиатов являются причиной хронических поражений печени [Ивашкин В.Т., Комаров Ф. И., 2002; Бондаренко А. Л., Барамзина С.В., 2004; Томилка Г. С., Журавлев Я. А., Гординская Н. М., 2002]. Течение хронического вирусного гепатита С по данным ряда работ крайне вариабельно [Бондаренко А. Л., Барамзина С. В., 2004; Игнатова Т. М., 2002; Корочкина О. В., Цыбасова А. И., Соринсон С. Н., 2002; Маевская М. В., 2004]. Наркотические вещества могут усиливать биохимические, микроциркуляторные, иммунологические и морфологические нарушения при вирусных гепатитах.

Принимая во внимание большое количество пациентов с сочетанным фактором поражения в виде HCV и опиатов, актуальным становится изучение морфологических критериев токсического поражения печени при рассматриваемой патологии. Исследования, в которых представлены результаты морфологической картины хронического вирусного гепатита С на фоне приема опиатов, отличаются противоречивостью [Ильченко Л. Ю., 1999; Масевич Ц. Г., Ермолаева Л. Г., 2002; Сахарова Е. Г., 1999; Толоконская Н. П., 1999; Томилка Г.С., 2001].

Предполагается, что повреждение ткани печени при ХВГ-С обусловлено, преимущественно, иммуноопосредованными механизмами. Результаты изучения HCV-инфекции показывают мощное и своеобразное взаимодействие вируса с иммунной системой хозяина. Накоплен обширный материал, свидетельствующий о грубых изменениях иммунологической реактивности у больных, страдающих опийной наркоманией. В то же время в литературе встречаются лишь единичные работы с оценкой функционального состояния иммунной системы при течении хронического вирусного гепатита С на фоне употребления опиатов [Курамшин Д. Х., 2002; Рисберг В. Ю., 2002].

Учитывая иммуноопосредованные механизмы повреждения печени при хроническом вирусном гепатите С, иммуносупрессивное и токсичное влияние опиатов, молодой возраст больных и тяжелые исходы хронических вирусных гепатитов, актуально изучение роли токсического агента – опиатов во взаимодействии с вирусом как в поражении печени, так и в отношении влияния на состояние иммунитета [Кожевникова Г. М., 2000; Семке В. Я., Бохан Н. А., Мандель А. И., 2002; Чуйкова К. И., 2000]. Изучение функционального состояния иммунной системы, безусловно, приблизит к пониманию клинических и морфологических особенностей течения хронического вирусного гепатита С при употреблении опиатов.

Цель исследования. Установить клинко-морфологические особенности поражения печени и функциональное состояние иммунной системы при хроническом вирусном гепатите С на фоне опиной наркомании.

Задачи исследования:

1. Выявить клинические особенности течения хронического вирусного гепатита С на фоне опиной наркомании.
2. Установить морфологические феномены воздействия опиатов на ткань печени с анализом тяжести ее поражения при хроническом вирусном гепатите С.
3. Изучить функциональное состояние Т-клеточного и гуморального звеньев иммунной системы у пациентов с хроническим течением гепатита С на фоне употребления опиатов.
4. Выявить особенности цитокинового обмена при хроническом течении HCV-инфекции у опиных наркоманов.
5. Установить роль перекисного окисления липидов в тяжести поражения печени при хронических гепатитах.

Научная новизна. Впервые установлено, что воздействие опиатов в качестве изолированного токсического фактора не приводит к более тяжелому течению ХВГ-С. При этом употребление опиными наркоманами даже малых доз алкоголя (10-15 г этанола в сутки) сопровождается достоверно более значительным поражением печени с доминированием умеренной активности процесса и второй стадии фиброза. Впервые установлено, что фиброз центральных вен является морфологическим признаком системного употребления опиатов.

Впервые установлено, что при хроническом гепатите С на фоне опиной наркомании имеет место выраженная супрессия Т-клеточного звена иммунитета, развивается более глубокое истощение и угнетение секреции, как про- (Ил-2, ИФН- γ , ФНО- α), так и противовоспалительных цитокинов (Ил-4). При употреблении опиатов выявлена крайне низкая продукция ФНО- α –

ведущего провоспалительного цитокина, что, возможно, объясняет относительно латентное течение вирусного процесса в печени у наркоманов.

Практическая значимость. В результате исследования получено целостное представление о клинико-морфологических и иммунологических особенностях течения хронического вирусного гепатита С на фоне опиной наркомании, что практически значимо в дифференциально-диагностическом подходе к ведению пациентов. В результате исследования установлено, что 2/3 опиных наркоманов одновременно с опиатами употребляют малые дозы алкоголя, что сопровождается достоверно более тяжелым поражением печени. Выявлено, что все пациенты с течением хронического вирусного гепатита С на фоне опиной наркомании имеют одинаковый спектр маркеров хронических вирусных гепатитов: маркеры перенесенного острого вирусного гепатита В в виде изолированных HB core AT(IgG) и активной HCV инфекции. Установлено, что наличие изолированных HB core AT не утяжеляет течение хронического гепатита С. Выявлено, что фиброз центральных вен может быть использован как дифференциально-диагностический критерий присутствия опиатов в качестве этиологического фактора повреждения печени. При этом на основании состава воспалительного инфильтрата портальных трактов и состояния перипортальных и интралобулярных гепатоцитов нельзя достоверно судить об этиологии гепатита. Установлено, что на фоне системного употребления опиатов наблюдается значительное снижение продукции ведущего провоспалительного цитокина – ФНО- α , ответственного за защиту от бактериальных инфекций. Выявлено, что концентрация МДА в сыворотке крови является сывороточным маркером, отражающим тяжесть фиброза печени, что может быть использовано в практической медицине при противопоказаниях к проведению пункционной биопсии.

Положения, выносимые на защиту:

1. Хронический вирусный гепатит С на фоне опиной наркомании имеет клинические особенности, при этом употребление в качестве токсического фактора только опиатов не приводит к более тяжелому течению HCV-гепатита. Прогрессирование процесса в печени наблюдается именно в условиях воздействия сочетанного токсического фактора (алкоголь+опиаты).

2. Течение хронического вирусного гепатита С на фоне употребления опиатов сопровождается выраженной супрессией Т-клеточного звена иммунитета с более глубоким истощением и угнетением секреции как про- (Ил-2, ИФН- γ , ФНО- α), так и противовоспалительных цитокинов (Ил-4,) с крайне низкой продукцией ФНО- α .

Внедрение в практику. Основные результаты настоящей работы внедрены в лечебно-диагностический процесс отделения гастроэнтерологии Областной клинической больницы г. Томска. Основные результаты работы

используются в учебном процессе кафедры терапии факультета повышения квалификации и последипломной подготовки специалистов и кафедры госпитальной терапии с курсом физической реабилитации и спортивной медицины ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава.

Апробация работы. Основные положения работы докладывались на 17-ой и 18-ой российских научно-практических конференциях «Достижения современной гастроэнтерологии», 15-ой Российской гастроэнтерологической неделе.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 работ, из них 6 в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Подано две заявки на изобретения «Способ диагностики действующей опийной наркомании у больных хроническим вирусным гепатитом С» № 210102259 от 25.01.2010 и «Способ диагностики хронического вирусного гепатита С, обусловленного опийной наркоманией» № 210102262 от 25.01.2010, соавт.: Белобородова Е.В., Белобородова Э.И.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 156 страницах, содержит 17 таблиц и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, 4 глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает 350 источников, из них 187 отечественных и 163 иностранных.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе систематизированы результаты обследования 125 пациентов, госпитализированных в отделение гастроэнтерологии ОГУЗ Томская областная клиническая больница г. Томска в период с 2006 по 2009 гг.

Критериями включения пациентов в исследование явились положительные результаты на выявление маркеров вирусного гепатита С в сыворотке крови и факт внутривенного употребления опиатов кустарного производства. Из исследования были исключены пациенты, злоупотребляющие алкоголем, больные, с противовирусным лечением в анамнезе, с тяжелой сопутствующей патологией, которая могла бы оказать влияние на тяжесть поражения печени, исключался факт злоупотребления лекарственными препаратами.

Для выполнения поставленных задач все пациенты были разделены по этиологии заболевания на две основные группы. В 1 группу вошли больные с системным внутривенным употреблением опиатов – 75 человек (60 % от числа всех обследованных). Во всех случаях в качестве наркотика использовался сырец опия. Все пациенты этой группы употребляли опиаты кустарного производства, и, по результатам консультации нарколога, у них был диагностирован синдром зависимости от опиатов по МКБ–10 [Купер Дж. Э.,

2000]. При сборе анамнеза у большинства пациентов основной группы было выявлено употребление малых доз алкоголя (10–15 г этанола в сутки), поэтому первая группа была разделена на две подгруппы с дальнейшим анализом влияния опиатов и алкоголя. Лишь у трети пациентов (32%) имело место «изолированное» влияние опиатов на течение HCV-инфекции (подгруппа 1А). У большинства больных – в 68% случаев, токсический фактор имел смешанный характер: пациенты одновременно с регулярным приемом наркотика употребляли алкоголь (подгруппа 1Б).

При первичной диагностике у всех пациентов, вошедших в первую группу, был выявлен одинаковый спектр маркеров хронических вирусных гепатитов. У всех больных методом ИФА определялись маркеры перенесенного острого вирусного гепатита В в виде изолированных HB core AT(IgG) и активной HCV инфекции.

Группа сравнения (группа 2) с «изолированным» вирусным поражением печени составила 50 человек, все они имели положительную ПЦР к HCV (табл. 1).

На основании клинико-морфологического исследования стадия хронического гепатита была установлена 116 пациентам (92,8%). Цирроз печени был выявлен у 9 больных (7,2%). Обращает на себя внимание, что среди них нет ни одного пациента, с течением хронического вирусного гепатита на фоне воздействия «изолированного» токсического фактора (опиатов). Вклад изучаемых этиологических факторов в развитие патологии печени представлен в таблице 1.

Таблица 1

Распределение пациентов по группам в зависимости от этиологии заболевания с выделением основных стадий прогрессирования патологического процесса в печени

Группы		1		2	Всего
Подгруппы		1А	1Б		
Состав		Нарк	Нарк+А лк	ХВГ-С	
Всего	абс.	24	51	50	125
	%	19,2	40,8	40	
Хронический гепатит	абс.	24	45	47	116
	%	20,7	38,8	40,5	92,8
Цирроз печени	абс.	0	6	3	9
	%	0	67,7	33,3	7,2

Примечание: Здесь и далее в таблицах применяются сокращенные обозначения групп: ХВГ-С – хронический гепатит С; Алк – употребление алкоголя (10–15 г этанола в сутки); Нарк – наркомания.

Методы исследования. Для решения поставленных в работе задач проводился комплексный анализ клинико-эпидемиологических, анамнестических данных, определение биохимических показателей, специфическая диагностика вирусных гепатитов, патоморфологическое изучение биоптатов печени, оценка ключевых показателей иммунной системы, исследование ПОЛ.

Светооптическое исследование биоптатов печени

Взятый для исследования фрагмент ткани печени, полученный методом слепой чрескожной пункционной биопсии печени под местной инфильтрационной анестезией, немедленно помещали в фиксирующую жидкость, состоящую из 96% этилового спирта и формалина в соотношении 1:4. Препараты готовили по стандартной методике, заливали в парафин [Серов В. В., 1989]. Срезы толщиной 5–6 мкм исследовали с помощью следующих гистологических методик: окраска гематоксилином и эозином, окраска пикнофуксином по Ван Гизону коллагеновых волокон соединительной ткани печени, окраска пиронином по Браше на РНК, ШИК-реакция по Мак-Манусу на гликоген и гликопротеиды, окраска липидов суданом черным, реакция Перлса на верификацию железа [Серов В. В., 1989]. Биоптаты считались информативными при обнаружении четырех и более портальных трактов с полноценными триадами (портальная вена, печеночная артерия, желчный проток). Индекс гистологической активности (ИГА) гепатита и степень фиброза рассчитывали по V. J. Desmet et al. (1994).

Изучали качественную и количественную характеристику состояния гепатоцитов как перипортальной, так и интралобулярной зон. Оценивали дистрофические процессы: гидропическую, жировую дистрофии, содержание в гепатоцитах железа. Обращали внимание на некроз гепатоцитов, портальную и интралобулярную клеточную инфильтрацию, а также характер фиброза.

Количественной оценке подвергался клеточный инфильтрат портальных трактов и внутри долек на срезах, окрашенных эозином и гематоксилином и по Браше. Подсчитывали абсолютное и относительное количество лимфоцитов, плазматических клеток, эозинофилов, нейтрофильных лейкоцитов, фибробластов во всех портальных трактах биоптата. Кроме того, подсчитывали гепатоциты со слабой, умеренной и выраженной концентрацией железа.

Для морфометрического исследования использовали компьютерную систему анализа изображений, включающую световой микроскоп с цифровой фотокамерой и программную обработку полученных изображений.

Исследования выполнены на кафедре патологической анатомии ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава (заведующий кафедрой, доктор медицинских наук, профессор Перельмутер В.М.).

Оценка иммунофенотипического профиля лимфоцитов

Определение содержания CD3+, CD4+, CD8+, CD22+, CD56+, CD95+ несущих лимфоцитов проводили иммуноцитохимическим методом с использованием набора реагентов фирмы «Dako» (Дания). Проводили подсчет 200 клеток и определяли относительное количество (%) положительно окрашенных клеток [Тоголян А. А., 2002].

Иммунологические исследования проводились совместно в лаборатории клинической иммунологии НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН г. Томск.

Исследование цитокинпродуцирующей способности мононуклеаров

Определение уровней IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-4, IL-10 и IL-12 в супернатантах культивированных мононуклеаров проводили с использованием твердофазного иммуноферментного «сэндвичевого» метода. Процедуру выполнения иммуноферментного анализа проводили по инструкциям, предлагаемым производителями тест-систем («Procon», Россия; «Cytimmune», США).

Учет результатов иммуноферментного анализа производили с помощью фотометра для микропланшетов «Multiscan EX» («ThermoLabSystems», Финляндия) при длине волны 450 (для IFN- γ , TNF- α , IL-2 и IL-4) и 490 нм (для IL-10 и IL-12). Концентрацию цитокинов вычисляли по калибровочной кривой.

Методы исследования концентрации малонового диальдегида и активности каталазы в биоптате печени и сыворотке крови

Исследование концентрации малонового диальдегида в биоптате печени и сыворотке крови. Для исследования отбирали 0,2 мл биоптата печени (сыворотки крови), добавляли 2 мл 50 мМ трис HCl буфера, 1,0 мл раствора трихлоруксусной и 1,0 мл раствора тиобарбитуровой кислоты. Пробу прогревали в кипящей водяной бане в течение 20 мин, затем центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин (на центрифуге типа ОПН -3). Интенсивность окраски измеряли при длине волны 523 нм в кювете с толщиной слоя 1 см [Камышников В. С., 2000].

Исследование активности каталазы в биоптате печени и сыворотке крови. Для исследования к 2 мл 0,03% перекиси водорода добавляли 0,1 мл сыворотки (биоптата печени). В холостую пробу – 0,1 мл дистиллированной воды. Инкубировали 10 минут при 37°C, затем добавляли 1мл 4% молибдата аммония, пробы центрифугировали в течение 10 мин при 4000 об/мин. Оптическую плотность измеряли при длине волны 410 нм против контроля – 2 мл дистиллированной воды и 1 мл молибдата аммония [Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г. и др., 1988].

Статистические методы анализа материала

Анализ количественных данных. Проверку на нормальность распределения фактических данных проводили с помощью критерия Шапиро-

Вилка. Результаты представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей (Me , Q_1 – Q_3), и среднего \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$).

При проведении сравнений независимых выборок, при количестве групп = 2 в случае нормального распределения и равных дисперсий в группах применяли t-критерий Стьюдента для независимых наблюдений или критерий Аспера-Уолча при неравенстве дисперсий; при отклонении распределения от нормального применяли критерий Манна-Уитни.

При количестве выборок более 2, во избежание эффекта множественных сравнений, в случае нормального распределения применяли дисперсионный анализ или его непараметрический аналог – H-критерий Краскала-Уоллиса и, при достоверных межгрупповых различиях, для попарных сравнений применяли критерий Данна и Z-критерий Краскала-Уоллиса [Allison D. W., 1987].

Для определения взаимосвязи между переменными вычисляли коэффициенты корреляции: при соответствии нормальному закону распределения – r Пирсона, при несоответствии нормальному закону распределения или бальных оценках – R Спирмена ($|r| \leq 0,25$ – слабая корреляция; $0,75 > |r| > 0,25$ – средняя сила корреляции; $|r| \geq 0,75$ – сильная корреляция) [Реброва О. Ю., 2003].

Анализ качественных данных. Для определения взаимосвязи между качественными переменными проводили анализ таблиц сопряженности с использованием критерия согласия χ^2 (при объеме выборки более 50 и частотах более 5) или (при невыполнении этих требований) точный критерий Фишера. При размерностях таблиц больше чем 2×2 , при достоверных различиях эмпирических форм распределения изучаемых признаков при попарных сравнениях применяли точный критерий Фишера с поправкой Бонферрони. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в исследовании принимался равным – 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ клинического материала, представленного в работе позволил установить, что 2/3 пациентов, употребляющих опиаты, одновременно употребляют малые дозы алкоголя (10–15 г этанола в сутки), и только треть больных является «чистыми» наркоманами. Также в результате исследования установлено, что у всех пациентов с наркотическим анамнезом в сыворотке крови определяются маркеры вирусных гепатитов, как В, так и С, с наличием во всех случаях активной HCV-инфекции в сочетании с серологическими маркерами перенесенной HBV-инфекции в виде «изолированных» HbcorAb. В работе была проанализирована роль наличия «изолированных» HbcorAb в тяжести течения хронического вирусного гепатита С путем сравнения

изучаемых групп. В результате исследования установлено, что наличие «изолированных» HbcorAb не утяжеляет течение HCV инфекции.

Результаты проведенного исследования позволили составить целостное представление о клинических проявлениях ХВГ-С на фоне опишной наркомании и сочетанного токсического фактора (алкоголь+опиаты).

В результате работы было установлено, что независимо от этиологии болезни, клинические проявления поражения печени были сконцентрированы в шести синдромах: астенический, болевой, диспепсический, синдром кишечной диспепсии, гепатомегалии и спленоmegалии. При этом независимо от этиологии гепатита ведущим во всех группах был астенический синдром. Не было получено достоверной разницы при опишной наркомании в частоте встречаемости данных клинических синдромов (табл. 2).

Таблица 2

Основные клинические синдромы при хронических заболеваниях печени различной этиологии

Основные клинические синдромы		Нарк	Нарк +Алк	ХВГ-С	p _{1А-1Б}	p _{2-1А}
		1А	1Б	2		
Астенический синдром	абс.	17	41	43	0,2	0,09
	%	70,8	80,4	86,0		
Болевой синдром	абс.	19	35	28	0,6	0,12
	%	79,1	68,6	56,0		
Диспепсический синдром	абс.	16	31	38	0,8	0,4
	%	66,7	60,7	76,0		
Кишечная диспепсия	абс.	10	21	30	1	0,13
	%	41,7	41,2	60,0		
Гепатомегалия	абс.	12	27	20	0,6	0,5
	%	50,0	52,9	40,0		
Спленоmegалия	абс.	2	7	3	0,8	0,2
	%	8,3	13,7	6,0		

При анализе внепеченочных проявлений заболевания было установлено, что у пациентов с течением ХВГ-С на фоне опишной наркомании достоверно чаще встречается поражение почек в виде хронического гломерулонефрита (20,8% пациентов, p_{2-1А} < 0,001). В результате анализа внепеченочных проявлений заболевания также была установлена высокая частота встречаемости катаральных и эрозивных поражений верхних отделов ЖКТ при хроническом течении гепатита независимо от его этиологии (31,4% – 54,2%). Не было получено достоверной разницы в частоте регистрации этих поражений на фоне опишной наркомании (табл. 3)

Таблица 3

Основные внепеченочные проявления при хронических заболеваниях печени различной этиологии

Внепеченочные проявления		Нарк	Нарк +Алк	ХВГ-С	p _{1А-1Б}	p _{2-1А}
		1А	1Б	2		
Эрозивный гастрит, рефлюкс-эзофагит	абс.	13	16	20	0,1	0,25
	%	54,2	31,4	40,0		
Гипотония желчного пузыря	абс.	14	32	29	0,8	1
	%	58,3	62,7	58,0		
Поражение почек	абс.	5	7	0	0,7	<0,001
	%	20,8	13,7	0,0		
Миокардио-дистрофия	абс.	3	7	8	1	0,76
	%	12,5	13,7	16,0		
Суставно-мышечный синдром	абс.	12	29	26	0,1	0,8
	%	50	56,9	52,0		

Анализ биохимических показателей у пациентов с ХГ различного генеза позволил выделить ведущие биохимические синдромы. Биохимические показатели сыворотки крови при опийной наркомании не отличались от показателей при «изолированном» течении ХВГ-С. У каждого 8 больного как при «изолированном» вирусном (HCV) гепатите, так и на фоне употребления наркотиков, вообще отсутствовали биохимические синдромы, указывающие на поражение печени. Синдром цитолиза и иммуновоспалительный синдром были выявлены лишь у половины пациентов с гепатитом как вирусной (HCV), так и вирусно-опийной этиологии. При этом по данным исследования при течении ХВГ-С на фоне сочетанного токсического фактора (алкоголь+опиаты) в полтора раза увеличивалась частота встречаемости синдрома цитолиза (70,5%, $P_{1А-1Б} = 0,05$) с достоверно более высокими значениями АсАТ ($p_{1А:1Б} = 0,03$), чем при вирусно-опийной этиологии гепатита. Синдромы холестаза, гипербилирубинемии и «перегрузки» железом не характерны для течения ХВГ-С на фоне опийной наркомании. Данные синдромы регистрировались менее чем у четверти пациентов без достоверной разницы в зависимости от этиологии гепатита.

В группе пациентов с «изолированным» течением ХВГ-С и при сопутствующей наркомании с равной частотой встречались больные, у которых биохимические показатели крови полностью соответствовали норме. При этом

у всех пациентов с течением ХВГ-С на фоне сочетанного токсического фактора (опиаты + алкоголь) имели место патологические изменения биохимических показателей крови.

На основании анализа клинической картины у 9 обследованных пациентов был диагностирован ЦП, который подтвержден морфологически. В группе больных с опиной наркоманией ЦП был выявлен только в подгруппе с сопутствующим употреблением алкоголя (у 12,2%), что в 2 раза чаще, чем при «изолированной» вирусной (HCV) этиологии заболевания (у 6,3%).

В результате морфологического исследования биоптатов было установлено, что употребление опиатов как изолированного токсического фактора не влияет на тяжесть поражения печени при хроническом течении HCV гепатита. При ХВГ вирусной (HCV) и вирусно-опиной этиологии в основном наблюдалась слабая степень активности патологического процесса в печени (64,6% и 80,9% соответственно) (табл. 4).

Таблица 4

Данные морфологического исследования биоптатов печени у пациентов с различной этиологией заболевания

Группы			Нарк	Нарк+Алк	ХВГ-С	Р парн.
			1А n=21	1Б n=49	2 n=48	
Активность процесса	Слабая	абс %	17 80,9	21 42,8	31 64,6	$p_{1A-1B}=0,01$
	Умеренная	абс %	3 14,3	24 49,0	14 29,2	$p_{1A-1B}=0,01$
	Высокая	абс %	1 4,8	4 8,2	3 6,2	ns
Стадия фиброза	I	абс %	11 52,4	12 24,5	24 50,0	$p_{1A-1B}=0,03$
	II	абс %	8 38,1	23 47,0	17 35,4	ns
	III	абс %	2 9,5	8 16,3	4 8,3	ns
	IV	абс %	0 0	6 12,2	3 6,3	ns

Средние значения ИГА в группах практически не отличались и составили 7 и 6,5 соответственно. В половине случаев как при «изолированном» течении ХВГ-С, так и на фоне опиной наркомании установлена только I стадия фиброза (50,0% и 52,4% соответственно), у трети больных - вторая стадия фиброза (35,4% и 38,1% соответственно), третья стадия фиброза установлена менее, чем у 1/10 больных в этих группах сравнения (8,3% и 9,5% соответственно). Фиброз 4 стадии выявлен у 6,3% пациентов с

«изолированным» течением ХВГ-С. При этом стадия цирроза в группе пациентов, употреблявших только наркотики, не была выявлена ни в одном случае, несмотря на сопоставимую длительность течения вирусного процесса в группах сравнения (табл. 2). Таким образом, в результате исследования установлено, что употребление опиатов не влияет на тяжесть поражения печени при ХВГ-С.

В результате настоящего исследования было установлено, что употребление алкоголя опийными наркоманами даже в малых дозах (10-15 г в сутки) обуславливает достоверно более тяжелое поражение печени при ХВГ-С. По данным морфологического исследования в группе с сочетанным токсическим фактором доминировала умеренная активность процесса и вторая стадия фиброза. Кроме того, только сочетанный токсический фактор обуславливал ЦП у пациентов с HCV-инфекцией. ЦП диагностирован у 6 наркоманов, употребляющих алкоголь (12,2%) и ни у одного больного с влиянием только наркотиков.

С целью выявления и установления морфологических критериев воздействия опиатов на гепатоциты, в исследовании были изучены клеточный состав инфильтрата портальных трактов и состояние перипортальных и интралобулярных гепатоцитов при рассматриваемом генезе поражения (HCV, опиаты, алкоголь+опиаты). В результате исследования было установлено, что на основании данных световой микроскопии со стандартным описанием состояния перипортальных и интралобулярных гепатоцитов, а также клеточного состава воспалительного инфильтрата портальных трактов, невозможно достоверно судить о факте употребления опиатов. Как при «изолированной» HCV-инфекции, так и при употреблении опиатов наиболее часто встречается гидрорическая дистрофия, и воспалительный инфильтрат портальных трактов представлен преимущественно лимфоцитами и моноцитами с малым числом плазмоцитов, нейтрофилов и эозинофилов. Т.е. в результате исследования установлено, что факт употребления опиатов не влияет на клеточный состав воспалительного инфильтрата портальных трактов и вариант дистрофии гепатоцитов при HCV-инфекции. Полученные данные свидетельствуют о едином механизме повреждения печени, как при вирусной, так и при вирусно-опийной этиологии болезни с ведущим значением именно иммуноопосредованных механизмов поражения ткани печени.

При проведении световой микроскопии биоптатов в работе был сделан акцент на выявление фиброза центральных вен, так как, по мнению ряда авторов, [Серов В. В., Лапиш К., 1989; Серов В. В., Севергина Л. О., 1996; Cramp M. E., Carucci P., Underhill J., Naoumov N.V., 1998] именно эта локализация фиброзной ткани является характерной для токсической этиологии поражения печени. Установлено, что фиброз центральных вен при системной наркомании встречается практически в три раза чаще, чем при

«изолированном» вирусном генезе гепатита (46,1% и 18,7% соответственно), что статистически достоверно ($p_{2-1Б} = 0,034$) (рис. 1). Данная локализация фиброза при употреблении опиатов была выявлена у каждого второго больного, в связи с чем полученные данные позволяют рассматривать фиброз центральных вен как диагностический признак токсического воздействия опиатов.

Таким образом, по результатам исследования установлено, что опиаты не влияют на клеточный состав воспалительного инфильтрата портальных трактов и вариант дистрофии гепатоцитов. Фиброз центральных вен является характерным признаком не только алкогольного, но и опийного поражения печени. Полученный результат вполне логичен, т.к. опиаты метаболизируются в третьей зоне гепатоцитов. Т.е. фиброз центральных вен является универсальным признаком воздействия токсических факторов на печень.

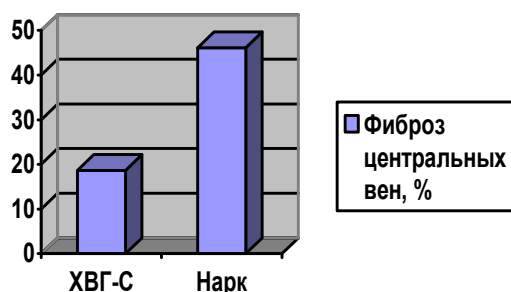


Рисунок 1 – Особенности фиброзообразования в печени при хроническом вирусном гепатите С и на фоне опийной наркомании

Учитывая ведущую роль именно иммуноопосредованных механизмов в повреждении ткани печени при хроническом вирусном гепатите С, в работе проведен анализ состояния клеточного и гуморального звеньев иммунной системы и оценка цитокинпродуцирующей способности мононуклеаров периферической крови. В результате исследования установлено, что у лиц, страдающих HCV-инфекцией, как при «изолированном» течении заболевания, так и на фоне опийной наркомании, имеют место дефекты Т-клеточного звена иммунитета в виде количественного и качественного изменения состава иммунокомпетентных клеток. По данным работы, в условиях хронической персистенции в организме вируса HCV, имеет место Т-клеточный иммунодефицит (абсолютная лимфопения, низкое содержание зрелых Т-лимфоцитов), угнетение неспецифического звена защиты (низкое число натуральных киллеров), увеличение количества лимфоцитов с повышенной апоптотической готовностью и высокая активность гуморального звена иммунитета.

Влияние опиатов обуславливает более глубокую депрессию Т-клеточного звена (низкий иммунорегуляторный индекс) и отсутствие активности гуморального звена иммунитета.

При изучении фенотипических свойств лимфоцитов обращало на себя внимание двукратное увеличение как абсолютного, так и относительного содержания CD95+ экспрессирующих клеток (лимфоциты, готовые к апоптозу), что было установлено во всех изучаемых группах: как при «изолированной» персистенции HCV в организме, так и на фоне приема опиатов. Высокое содержание лимфоцитов с повышенной апоптотической готовностью говорит об их функциональной неполноценности, отражает системность воздействия опиатов и HCV и подтверждает их цитопатическое действие на клетки Т-звена иммунитета, отчасти объясняя установленный вторичный иммунодефицит у обследованных пациентов.

Учитывая, что подавляющее число иммунорегуляторных эффектов опосредовано цитокинами и именно эти белковые вещества составляют основу химической сигнализации, путем которой в макроорганизме регулируются морфогенез, воспаление, регенерация тканей и иммунный ответ, в исследование был включен анализ цитокинпродуцирующей способности мононуклеаров (табл. 5).

Таблица 5

Содержание иммуоцитокинов в супернатантах (пг/мл) у больных с хроническим вирусным гепатитом С и на фоне опиоидной наркомании (Me; Q1:Q3)

Показатели	Здоровые доноры		ХВГ-С		Наркомания		Р парн.
	1		2		3		
	n	Me	n	Me	n	Me	
ИФН- γ базальный уровень	10	112,59 104,8:126,6	33	100,0 21,5:145	7	20,5 20:22	$p_{1-3}<0,001$, $p_{2-3}=0,005$
ИФН- γ стимулированный уровень	10	280,2 257,9:305,2	33	180,0 22:310	7	20,0 20:22	$p_{1-2}<0,001$, $p_{1-3}<0,001$, $p_{2-3}=0,001$
ИФН- γ , индекс стимуляции	—	—	33	1,36 1,02:1,9	7	1,0 0,98:1,02	ns
ФНО- α базальный уровень	10	113,88 80,2:137,5	31	38,75 30:125	6	20,0 12:50	$p_{1-2}<0,001$, $p_{1-3}<0,001$, $p_{2-3}=0,003$
ФНО- α стимулированный уровень	10	410,24 102,6:465,2	31	125,0 66:271	6	30,5 15:80	$p_{1-3}<0,001$, $p_{2-3}<0,001$
ФНО- α , индекс стимуляции	—	—	31	2,0 1,33:2,87	6	1,16 0,65:1,78	$p_{2-3}<0,001$
ИЛ-2 базальный уровень	10	50,61 40,58:64,24	33	31,0 16:42	7	39,0 8:46	ns

Показатели	Здоровые доноры		ХВГ-С		Наркомания		Р парн.
	1		2		3		
	n	Me	n	Me	n	Me	
ИЛ-2 стимулированный уровень	10	196,84 137,7:224,3	33	68,0 38:117	7	42,0 8:100	p ₁₋₂ <0,001, p ₁₋₃ <0,001
ИЛ-2, индекс стимуляции	—	—	33	1,8 1,41:3,67	7	1,31 1:1,45	p ₂₋₃ =0,001
ИЛ-4 базальный уровень	10	61,08 49,18:73,21	33	44,0 9,9:74	7	10,6 9,1:11,8	p ₁₋₂ <0,001, p ₁₋₃ <0,001, P ₂₋₃ =0,026
ИЛ-4 стимулированный уровень	10	152,82 130,9:159,8	33	58,0 10,9:122	7	10,6 9,2:14,3	p ₁₋₂ <0,001, p ₁₋₃ <0,001
ИЛ-4, индекс стимуляции	—	—	33	1,38 1,05:2,06	7	1,14 1:1,25	ns
ИЛ-10 базальный уровень	10	64,95 60,52:85,96	19	175,66 133,6:308	5	248,5 218,5:288,5	p ₁₋₂ <0,001, p ₁₋₃ <0,001, P ₂₋₃ =0,034
ИЛ-10 стимулированный уровень	10	133,13 115,4:170,8	19	431,0 357,6:497	5	508,0 468:558	p ₁₋₂ <0,001, p ₁₋₃ <0,001, P ₂₋₃ =0,001
ИЛ-10, индекс стимуляции	—	—	19	2,42 1,29:3,11	5	2,04 1,64:2,54	ns
ИЛ-12 базальный уровень	10	66,28 62,69:70,42	33	71,12 61,42:334	7	331,0 280:348	p ₁₋₂ =0,003, p ₁₋₃ <0,001
ИЛ-12 стимулированный уровень	10	651,04 519,4:744	33	260,8 201:350	7	373,0 335:409	p ₁₋₂ <0,001, p ₁₋₃ <0,001
ИЛ-12, индекс стимуляции	—	—	33	2,67 1,06:3,73	7	1,25 1,13:1,39	ns

В результате работы установлено значительное влияние опиатов на цитокинпродуцирующую способность мононуклеаров с более выраженным дисбалансом в обмене цитокинов. У пациентов с вирусно-опийной этиологией гепатита по сравнению с «изолированным» течением ХВГ-С установлено более глубокое истощение и угнетение секреции, как про-(ИЛ-2, ИФН-γ, ФНО-α), так и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4), что, возможно, обусловлено дополнительной длительной антигенной стимуляцией опиатами Т-клеточного звена иммунитета. При этом уровень продукции ИЛ-10 (ведущего противовоспалительного цитокина) у пациентов с вирусно-опийной этиологией гепатита оказался достоверно выше, что объясняет относительную стабильность процесса в печени.

В результате исследования было установлено, что в условиях употребления опиатов имеет место крайне низкая базальная и стимулированная продукция ФНО- α – ведущего провоспалительного цитокина, ответственного не только за повреждение печени, но и обеспечивающего защиту организма от бактериальных агентов. Кроме того, по данным ряда исследований, ФНО- α принимает активное участие в процессах прогрессирования фиброза за счет стимуляции клеток Купфера [Комаров Ф. И., 2002; Хаитов Р. М., 2000]. Выявленная крайне низкая продукция ФНО- α при системном влиянии опиатов, возможно, объясняет латентное течение процесса в печени у наркоманов и склонность их к бактериальным инфекциям.

Для установления роли ПОЛ в прогрессировании и тяжести течения гепатита был проведен анализ зависимости активности процесса и стадии фиброза от значений основных показателей оксидантной и антиоксидантной систем. В результате анализа показателей ПОЛ в сыворотке крови и ткани печени в сопоставлении с морфологическими данными подтверждено участие ПОЛ в прогрессировании хронического вирусного гепатита, в активности хронического воспаления в печени и в фиброгенезе. В результате работы установлено, что концентрация МДА в сыворотке крови отражает тяжесть фиброза печени с наличием сильной прямой корреляционной связи ($r = 0,75$).

Выводы

1. Клиническое течение HCV-инфекции на фоне употребления опиатов не отличается от клиники «изолированного» ХВГ-С. Особенностью ХВГ-С у опийных наркоманов является поражение почек в виде хронического гломерулонефрита, которое имеет место у каждого пятого пациента.
2. Все пациенты, регулярно употребляющие опиаты, имеют одинаковый спектр маркеров вирусных гепатитов: HCV в стадии репликации (ПЦР +) и маркеры перенесенного острого вирусного гепатита В в виде изолированных HBsAg и AT(IgG).
3. Воздействие опиатов, как изолированного токсического фактора, не приводит к более тяжелому течению ХВГ-С. Употребление опийными наркоманами даже крайне малых доз алкоголя (10 г этанола в сутки) обуславливает более значительное поражение печени.
4. Фиброз центральных вен является характерным морфологическим признаком присутствия опиатов в качестве повреждающего печень фактора. Состав воспалительного инфильтрата портальных трактов и состояние

перипортальных и интралобулярных гепатоцитов не зависит от генеза поражения печени.

5. При хроническом течении гепатита С употребление опиатов обуславливает более глубокую депрессию Т-клеточного звена иммунитета. На фоне опиной наркомании наблюдается значительное истощение и угнетение секреции, как про- (Ил-2, ИФН- γ , ФНО- α), так и противовоспалительных цитокинов (Ил-4) с выраженным дисбалансом интерлейкинов и поляризацией иммунного ответа по Th-2 пути (высокая секреция ИЛ-10 и крайне низкая – ФНО- α).
6. Процессы ПОЛ активно участвуют в прогрессировании хронического вирусного гепатита С, обуславливая активность воспаления в печени и фиброгенез. Концентрация МДА в сыворотке крови является сывороточным маркером, отражающим тяжесть поражения печени.

Практические рекомендации

1. Рекомендуется обязательный учет алкогольного анамнеза у опиных наркоманов. Употребление ими даже крайне малых доз алкоголя (10 г этанола в сутки) приводит к более тяжелому поражению печени.
2. Все пациенты с течением хронического вирусного гепатита С на фоне опиной наркомании имеют одинаковый спектр маркеров вирусных гепатитов: маркеры перенесенного острого вирусного гепатита В в виде изолированных НВ core AT(IgG) и активной HCV инфекции. Наличие изолированных НВ core AT не утяжеляет течение хронического вирусного гепатита С.
3. У каждого пятого пациента с опиной наркоманией имеет место поражение почек в виде хронического гломерулонефрита, у большинства больных встречается гипотония желчного пузыря, катаральные и эрозивные поражения верхних отделов ЖКТ.
4. Фиброз центральных вен может быть использован как дифференциально-диагностический критерий присутствия опиатов в качестве этиологического фактора повреждения печени при ХВГ-С. Состав воспалительного инфильтрата портальных трактов и состояние перипортальных и интралобулярных гепатоцитов не отражают генез поражения печени.
5. Рекомендуется учитывать, что на фоне опиной наркомании наблюдается значительное снижение ведущего провоспалительного цитокина – ФНО- α , ответственного за защиту от бактериальных инфекций.

6. В работе выявлена высокая корреляция между тяжестью фиброза печени и концентрацией МДА в сыворотке крови. Значения МДА рекомендуется использовать в качестве сывороточного маркера как дополнительный критерий для оценки тяжести фиброза печени и как основной – при наличии противопоказаний к проведению пункционной биопсии.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Состояние билиарной системы у пациентов с хроническими вирусными гепатитами различной этиологии / В.Л. Останко, Е.В. Белобородова, Э.И. Белобородова, О.И. Гибадулина, Т.А. Колосовская, Т.П. Калачева, Д.В. Чвырина // Сибирский вестник гепатологии и гастроэнтерологии. – 2008. – №22. – С. 39-42.
2. Механизм прогрессирования фиброза печени при хроническом течении заболеваний вирусной и токсической этиологии / Е.В. Белобородова, Э.И. Белобородова, О.Е. Акбашева, В.Ю. Серебров, Г.Э. Черногорюк, М.И. Рачковский, И.Л. Пурлик, В.Л. Останко, Д.В. Чвырина // Мед. вестник Северного Кавказа. –2009. – № 2. – С. 19-25.
3. Клинические особенности течения хронического вирусного гепатита С на фоне опийной наркомании / Д.В. Чвырина, Е.В. Белобородова, Э.И. Белобородова, В.Л. Останко, Д.А. Сухадолин, Л.А. Петрова // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии – 2009. – № 5. Приложение № 34. Материалы пятнадцатой Российской гастроэнтерологической недели 12-14 октября 2009г., Москва. – С. 104.
4. Морфологические особенности ткани печени при течении ХГ-С на фоне опийной наркомании / Д.В. Чвырина, Е.В. Белобородова, Э.И. Белобородова, В.Л. Останко, Д.А. Сухадолин, Л.А. Петрова // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии – 2009. – № 5. Приложение № 34. Материалы пятнадцатой Российской гастроэнтерологической недели 12-14 октября 2009г., Москва. – С. 104.
5. Показатели системы протеолиза и метаболизма коллагена при хроническом течении заболеваний печени вирусной и токсической этиологии / Е.В. Белобородова, Э.И. Белобородова, О.Е. Акбашева, В.Ю. Серебров, Г.Э. Черногорюк, М.И. Рачковский, И.Л. Пурлик, В.Л. Останко, Д.В. Чвырина // Терапевтический архив. – 2010. – № 2. – С. 29-34.
6. Активность эласазо-, кооллагеназоподобных протеиназ и их ингибиторов в плазме крови при метаболизме коллагена в условиях хронического течения заболеваний печени вирусной и токсической этиологии / Е.В. Белобородова,

- Э.И. Белобородова, О.Е. Акбашева, В.Ю. Серебров, Г.Э. Черногорюк, М.И. Рачковский, И.Л. Пурлик, В.Л. Останко, Д.В. Чвырина // Бюллетень СО РАМН. – 2010. – № 2. – С. 94-99.
7. Структурно-функциональное поражение миокарда у больных хроническим вирусным гепатитом в сочетании с хроническим описторхозом / Э.И. Белобородова, И.П. Челнова, Е.В. Белобородова, В.Г. Челнов, Л.И. Тюкалова, И.Л. Пурлик, Д.В. Чвырина, С.Г. Шкорлупа // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2010. – № 3. – С. 16-20.
8. Структурно-функциональное поражение миокарда у больных хроническим вирусным гепатитом / Э.И. Белобородова, И.П. Челнова, Е.В. Белобородова, В.Г. Челнов, Л.И. Тюкалова, И.Л. Пурлик, Д.В. Чвырина, С.Г. Шкорлупа // Сибирский медицинский журнал. – 2010. – № 3. – С. 33-38.
9. Состояние желчевыделительной системы при хронических гепатитах различной этиологии / В.Л. Останко, Д.В. Шахрай, Е.В. Белобородова, И.О. Гибадулина, Э.И. Белобородова, М.А. Чернова, И.В. Захаренко, Д.В. Чвырина, Е.С. Моргунов // Уральский медицинский журнал. – 2010. – № 10. – С. 97-100.
10. Показатели качества жизни у пациентов с хроническими вирусными гепатитами / Э.И. Белобородова, Е.Г. Ламброва, Е.В. Белобородова, В.Л. Останко, А.С. Алексеева, Т.П. Калачева, И.К. Лившиц, Д.В. Чвырина // Терапевтический архив. – 2010. – № 11. – С.41-45.

Список использованных сокращений

АсАТ	аспартатаминотрансфераза	РНК	рибонуклеиновая кислота
АТ	антитела	ФНО-α	фактор некроза опухоли альфа
ЖКТ	желудочно-кишечный тракт	ХВГ	хронический вирусный гепатит
ИГА	индекс гистологической активности	ХГ	хронический гепатит
ИЛ	интерлейкин	ХВГ-С	хронический вирусный гепатит С
ИФА	иммуноферментный анализ	ЦП	цирроз печени
ИФН-γ	интерферон гамма	Ig	иммуноглобулин
МДА	малоновый диальдегид	Th	Т-хелперы
ПОЛ	перекисное окисление липидов		
ПЦР	полимеразная цепная реакция		