



© CC И. А. Карабак, В. Е. Карев, 2021  
УДК 616.36-002.2-003.828-02 : 576.54  
DOI: 10.24884/1607-4181-2021-28-4-29-37

**И. А. Карабак\***, **В. Е. Карев**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия

## МЕЖКЛЕТОЧНЫЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ И ИХ РОЛЬ В ФИБРОГЕНЕЗЕ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ С

Поступила в редакцию 17.12.2021 г.; принята к печати 25.02.2022 г.

### Резюме

**Введение.** В основе формирования жизнеугрожающих осложнений при хроническом гепатите С (ХГС) лежит прогрессирующий фиброгенез. Процесс формирования фиброза печени обеспечивается межклеточными взаимодействиями, прежде всего, лимфоцитов, макрофагов и звездчатых клеток (ЗК), закономерности взаимных влияний которых на данный момент изучены недостаточно.

**Цель** — изучить особенности межклеточных взаимосвязей непаренхиматозных клеток печени при различной гистологической активности, на разных стадиях фиброза ХГС и при разных генотипах вируса гепатита С (ВГС).

**Методы и материалы.** Объект исследования — 64 биоптата печени взрослых пациентов с естественным течением ХГС. Использовали гистологический, иммуногистохимический и иммуногистоморфометрический методы.

**Результаты.** Возрастание гистологической активности сопровождается увеличением количества и размеров (площади) CD68 + -макрофагов и SMA-alfa + ЗК. Корреляционные взаимосвязи межклеточных взаимодействий при низкой и умеренной гистологической активности имели значимые отличия. При слабо выраженном фиброзе выявлялась взаимосвязь между количеством CD8 + -лимфоцитов, количеством и площадью CD68 + -макрофагов и SMA-alfa + ЗК. Для 1-го генотипа ВГС характерно преобладание взаимосвязи между содержанием CD8 + -лимфоцитов, количеством и площадью CD68 + -макрофагов в печени, для 3-го генотипа — между содержанием CD8 + -лимфоцитов, количеством и площадью SMA + ЗК.

**Заключение.** Максимальная активация ЗК и макрофагов происходит уже при умеренной гистологической активности и сохраняется при ее увеличении. Закрепление иммунопатологического характера межклеточных взаимосвязей между лимфоцитами, макрофагами и ЗК происходит на стадии слабо выраженного фиброза. Межклеточные взаимосвязи имеют существенные различия в зависимости от генотипа ВГС, что может определять неблагоприятный прогноз заболевания.

**Ключевые слова:** хронический гепатит С, фиброгенез, макрофаги, звездчатые клетки, Т-лимфоциты, генотип

**Для цитирования:** Карабак И. А., Карев В. Е. Межклеточные взаимоотношения и их роль в фиброгенезе при хроническом гепатите С. *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова.* 2021;28(4):29–37. DOI: 10.24884/1607-4181-2021-28-4-29-37.

\* **Автор для связи:** Ирина Александровна Карабак, ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства», 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 9. E-mail: irina-karabak@mail.ru.

**Irina A. Karabak\***, **Vadim E. Karev**

Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint Petersburg, Russia

## INTERCELLULAR INTERACTIONS AND THEIR ROLE IN FIBROGENESIS IN CHRONIC HEPATITIS C

Received 17.12.2021; accepted 25.02.2022

### Summary

**Introduction.** The development of life-threatening complications in chronic hepatitis C (CHC) is based on progressive fibrogenesis. The developing of liver fibrosis is provided by intercellular interactions, first of all, of lymphocytes, macrophages and stellate cells (SC), the patterns of mutual influences of which have not been sufficiently studied at the moment.

**The objective** was to study the features of intercellular interplay of nonparenchymal liver cells at different histological activity, at different stages of CHC fibrosis, and at different genotypes of the hepatitis C virus (HCV).

**Methods and materials.** The object of the study was 64 liver biopsies of adult patients with natural course of CHC. Histological, immunohistochemical and immunohistomorphometric methods were used.

**Results.** The increasing histological activity is accompanied by an increase in the number and size (area) of CD68 + macrophages and SMA- $\alpha$  + SC. Correlation relationships of intercellular interactions at low and moderate histological activity had significant differences. In mild fibrosis, a relationship was found between the number of CD8 + lymphocytes, the number and area of CD68 + macrophages and SMA- $\alpha$  + SC. HCV genotype 1 is characterized by a predominance of the interactions between the number of CD8 + lymphocytes, the number and area of CD68 + macrophages in the liver, for genotype 3 – between the number of CD8 + lymphocytes, the number and area of SMA + SC.

**Conclusions.** The maximum activation of SC and macrophages occurs even with moderate histological activity and persists with an increase. The consolidation of the immunopathological nature of the intercellular interplay between lymphocytes, macrophages and SC occurs at the stage of mild fibrosis. Intercellular interactions have significant differences depending on the HCV genotype, which can determine a poor prognosis of the disease.

**Keywords:** chronic hepatitis C, fibrogenesis, macrophages, stellate cells, T-lymphocytes, genotype

**For citation:** Karabak I. A., Karev V. E. Intercellular interactions and their role in fibrogenesis in chronic hepatitis C. *The Scientific Notes of Pavlov University*. 2021;28(4):29–37. (In Russ.). DOI: 10.24884/1607-4181-2021-28-4-29-37.

\* **Corresponding author:** Irina A. Karabak, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, 9, Professor Popov str., Saint Petersburg, 197022, Russia. E-mail: irina-karabak@mail.ru.

## ВВЕДЕНИЕ

Вирусный гепатит С широко распространен: более 180 млн человек инфицировано во всем мире [1]. С вирусом гепатита С (ВГС) ассоциированы такие серьезные осложнения, как фиброз, цирроз печени и гепатоцеллюлярный рак, которые ежегодно приводят к смерти более чем 340 000 человек [2]. Вирусный гепатит С в большинстве случаев (50–85 %) имеет хроническое течение, что, прежде всего, обусловлено несостоятельностью иммунного ответа [3]. Иммунопатологический процесс при ХГС запускает процесс фиброгенеза, течение которого может быть как индолентным, так и быстропрогрессирующим, приводящим к достаточно быстрому формированию цирроза печени [4]. Причины различного течения фиброза при ХГС на настоящий момент не до конца понятны.

Фиброз печени – это динамический типовой патологический процесс организации повреждения в ткани печени. Фиброгенез является сложным процессом, сочетающим в себе повреждение паренхимы печени, ответные реакции иммунной системы и реактивные изменения непаренхиматозных клеток печени [5].

Основные популяции непаренхиматозных клеток печени, которые принимают участие в фиброгенезе:

– Т-лимфоциты – играют одну из главных ролей в формировании иммунопатологического процесса. При хроническом течении вирусного гепатита С отмечается слабый CD8 + Т-клеточный ответ, характеризующийся высоким уровнем готовности Т-лимфоцитов к апоптозу [6]. Причины подобного иммунного ответа связаны как с непосредственными эффектами ВГС, так и с другими неблагоприятными факторами (генетическая предрасположенность, мужской пол и пр.) [7];

– звездчатые клетки (Hepatic Stellate Cell, ЗК). Иммунопатологический процесс приводит к активации ЗК, превращению их в миофибробласты, которые начинают синтезировать коллаген – основ-

ной компонент фиброзной ткани. Кроме того, ЗК участвуют и в развитии иммунопатологического воспалительного процесса путем стимулирования Т- и НК-клеточного иммунного ответа, макрофагов и процессов ангиогенеза [8, 9];

– макрофаги печени (клетки Купффера) – являются главным компонентом врожденного иммунитета. При ХГС макрофаги выделяют провоспалительные цитокины (ИЛ-18, TNF и др.), активируют Т-лимфоциты и НК-клетки. Вместе с тем макрофаги печени оказывают и супрессивное воздействие, подавляющее Т-клеточный ответ. Клетки Купффера участвуют и в фиброгенезе, выполняя как профиброгенные, активирующие ЗК функции, так и противифиброгенные – путем синтеза и выделения коллагеназ и металлопротеиназ [10, 11].

Вследствие несостоятельного Т-клеточного иммунного ответа, происходит персистенция клеточно-опосредованного иммунного повреждения ткани печени, постоянная активация макрофагов печени и ЗК, что приводит к синтезу последними коллагена и фиброзу. В какой-то момент провоспалительные и профиброгенные эффекты непаренхиматозных клеток начинают превалировать над противоположными, порочный круг замыкается, что приводит к прогрессированию заболевания.

Несмотря на то, что патогенез ХГС активно изучается, остается еще много открытых вопросов. В частности, недостаточно изучены межклеточные взаимодействия на разных стадиях фиброза, особенности иммунопатологического процесса при разной выраженности клеточно-опосредованного иммунного повреждения, возможное влияние генотипа ВГС на течение фиброза при ХГС.

**Цель** – изучить особенности межклеточных взаимосвязей непаренхиматозных клеток печени при различной гистологической активности, на разных стадиях фиброза ХГС и при разных генотипах ВГС.

Таблица 1

**Различия качественных и количественных характеристик CD68+-макрофагов и SMA-alfa+ ЗК при различном ИГА**

Table 1

**Differences in the qualitative and quantitative characteristics of CD68+-macrophages and SMA-alfa+ SC with different histological activity index**

Показатель	ИГА-1 METAVIR	ИГА-2 METAVIR	ИГА-3 METAVIR	Уровень значимости (p)		
	n = 25	n = 32	n = 7	1/2	2/3	1/3
	медиана (Q1 – Q3)	медиана (Q1 – Q3)	медиана (Q1 – Q3)			
CD68, абс. в 1 мм <sup>2</sup>	399 (330 – 479)	487,5 (380,75 – 600,75)	501 (392 – 574)	0,03		
CD68, % в 1 мм <sup>2</sup>	3,5 (3,1 – 4,05)	4,6 (3,47 – 5,77)	4,7 (3,65 – 5,5)	0,004		0,027
SMA-alfa, абс. в 1 мм <sup>2</sup>	35 (23 – 45)	49 (32 – 66)	47 (35 – 80)	0,027		
SMA-alfa, % в 1 мм <sup>2</sup>	3,5 (1,9 – 4,75)	4 (2,8 – 6,77)	3 (2,4 – 9,5)	p>0,05		

### МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

Объект исследования: 64 биоптата печени больных в возрасте от 18 до 60 лет. Материал в течение суток фиксировали в 10 %-м забуференном формалине. Осуществляли проводку биоптатов в гистопротессоре Thermo Scientific Excelsior AS (*Thermo Shandon Limited*, Англия), заливку в парафин, изготовление срезов с использованием ротационного микротомата. Изготовленные препараты окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону. Аналитический этап проводили с использованием микроскопа Axio Scope A1 (*Carl Zeiss*, Германия). Проводили оценку по шкале METAVIR [12]: подсчитывали индекс гистологической активности (ИГА), отражающий выраженность клеточно-опосредованного иммунного ответа и выраженность фиброза (F).

Иммуногистохимическое исследование осуществляли с использованием иммуностейнера Autostainer 480S (*Thermo Shandon Limited*, Англия) и системы детекции UltraVision Quanto. Использовали мышинные или кроличьи моноклональные антитела к CD8 (клон SP16, 1/100, *Thermo*), alfa-SMA (клон asm-1, 1/50, *Leica*), CD68 (клон KP1, 1/6000, *Thermo*).

При помощи сканера Panoramic Midi (*3DHISTECH Kft.*, Венгрия) гистологические и иммуногистохимические препараты переводили в цифровой вид для проведения морфометрического исследования с использованием программы «QuantCenter». Выполняли количественный подсчет в паренхиме печени CD8 +-, CD68 +-, alfa-SMA + -клеток с пересчетом на 1 мм<sup>2</sup> ткани. Для маркеров CD68, alfa-SMA также оценивали среднюю площадь экспрессии.

Статистический анализ проводили с помощью программы «Statistica 10» для Windows с использованием непараметрического U-критерия Манна – Уитни, критерия Краскела – Уоллиса. Для проведения корреляционного анализа применяли коэффициент корреляции Спирмена. Результаты считали достоверными при уровне значимости p<0,05.

*Характеристика групп пациентов.* Распределение по ИГА (шкала METAVIR): A1 – 25 чело-

век, A2 – 32 человека, A3 – 7 человек, по стадии фиброза (шкала METAVIR): F0 – 9 человек, F1 – 42 человека, F2-3 – 12 человек.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно результатам проведенного исследования, межклеточные взаимосвязи между лимфоцитами, макрофагами и звездчатыми клетками в значительной степени отличаются в зависимости от стадии фиброза, гистологической активности и генотипа вируса, вызвавшего хронический гепатит.

Установлено, что с нарастанием ИГА происходит достоверное увеличение размеров (площадные характеристики) и абсолютного числа CD68 + -макрофагов и SMA-alfa + ЗК. Причем максимальные значения этих показателей достигаются при умеренной гистологической активности и сохраняются при высоких ее значениях (табл. 1).

Корреляционный анализ продемонстрировал наличие корреляционной взаимосвязи (КВ) между содержанием CD8 + -лимфоцитов и CD68 + -макрофагов, а также CD68 + -макрофагов и SMA + -звездчатых клеток во всей группе (табл. 2). При низкой гистологической активности выявлялась КВ между содержанием CD8 + -лимфоцитов и CD68 + -макрофагов, а также между площадью, занимаемой CD68 + -макрофагами, и содержанием SMA + -звездчатых клеток. При умеренной гистологической активности наблюдалась иная картина: отмечалась КВ между содержанием CD8 + -лимфоцитов и площадью CD68 + -макрофагов, а также площадью SMA + -звездчатых клеток и количеством CD68 + -макрофагов. В группе с высокой гистологической активностью достоверных КВ между исследуемыми клеточными популяциями не наблюдалось (табл. 2).

В исследовании было показано, что содержание CD68 + -макрофагов и SMA-alfa + ЗК на различных стадиях фиброза достоверно не отличалось (табл. 3).

Однако при проведении корреляционного анализа наблюдалась иная картина. При слабо

Таблица 2

**КВ между CD8+-лимфоцитами, CD68+-макрофагами и SMA+-звездчатыми клетками**

Table 2

**Correlation between CD8+lymphocytes, CD68+macrophages and SMA+stellate cells**

Количество	A total	A1	A2	A3
	n=64	n=25	n=32	n=7
CD8/CD68abs	<b>0,52</b>	<b>0,54</b>	<b>0,51</b>	-0,32
CD8/CD68 %	<b>0,58</b>	0,35	<b>0,61</b>	-0,07
CD8/SMAabs	<b>0,3</b>	0,07	0,28	0,18
CD8/SMA %	0,18	-0,09	0,23	0,25
CD68abs/SMAabs	<b>0,29</b>	0,34	0,26	-0,68
CD68abs/SMA %	<b>0,46</b>	0,38	<b>0,53</b>	0,25
CD68 %/SMAabs	<b>0,34</b>	<b>0,48</b>	0,27	-0,45
CD68 %/SMA %	<b>0,44</b>	<b>0,51</b>	<b>0,51</b>	0,17

Пр и м е ч а н и е: здесь и далее достоверны выделенные значения (p<0,05).

Таблица 3

**Содержание CD68+-макрофагов и SMA-alfa+ ЗК в зависимости от стадии фиброза ХГС**

Table 3

**The content of CD68+ macrophages and SMA-alfa+ SC depending on the stage of CHC fibrosis**

Показатель	F0 METAVIR	F1 METAVIR	F2-3 METAVIR	Уровень значимости (p)
	n=9	n=42	n=12	
	медиана (Q1 – Q3)	медиана (Q1 – Q3)	медиана (Q1 – Q3)	
CD68, абс. в 1 мм <sup>2</sup>	399 (345 – 447,5)	483,5 (377,75 – 584,5)	453 (402,5 – 510,75)	>0,05
SMA-alfa, абс. в 1 мм <sup>2</sup>	39 (33 – 49)	39 (27,25 – 56)	49 (35 – 80)	>0,05

Таблица 4

**КВ между CD8+-лимфоцитами, CD68+-макрофагами и SMA+-звездчатыми клетками на разных стадиях фиброза**

Table 4

**Correlation between CD8+ lymphocytes, CD68+ macrophages and SMA+ stellate cells at different stages of fibrosis**

Количество	F total	F0	F1	F2-3
	n=63	n=9	n=42	n=12
CD68abs/CD8	<b>0,51</b>	0,6	<b>0,57</b>	0,19
CD68 %/CD8	<b>0,58</b>	0,46	<b>0,59</b>	0,48
SMAabs/CD8	<b>0,34</b>	-0,05	<b>0,4</b>	0,46
SMA %/CD8	0,2	-0,36	0,27	0,36
CD68abs/SMAabs	<b>0,34</b>	0,37	<b>0,43</b>	-0,01
CD68abs/SMA %	<b>0,45</b>	0,03	<b>0,57</b>	0,3
CD68 %/SMA %	<b>0,43</b>	0,16	<b>0,48</b>	0,34
CD68 %/SMAabs	<b>0,4</b>	0,44	<b>0,44</b>	0,2

выраженном фиброзе (F1) отмечалась положительная КВ между содержанием CD8 + -лимфоцитов и содержанием и площадью CD68 + -макрофагов и SMA-alfa + ЗК (табл. 4). При отсутствии фиброза (F0) и при выраженном фиброзе (F2-3) достоверных КВ между качественными и количественными характеристиками исследуемых клеточных популяций не наблюдалось (табл. 4).

В исследовании были выявлены различия в межклеточных взаимодействиях в зависимости от генотипа ВГС. При генотипе 1 наблюдалась КВ средней силы между содержанием CD8 + -лимфоцитов, количеством и площадью CD68 + -макрофагов. При 3-м генотипе взаимосвязь между CD8 + -лимфоцитами и CD68 + -макрофагами была менее выраженной, однако отмечалась взаимосвязь

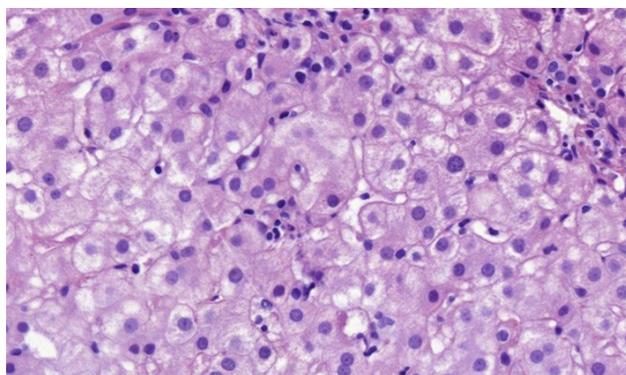
Таблица 5

**КВ между CD8<sup>+</sup>-лимфоцитами, CD68<sup>+</sup>-макрофагами и SMA<sup>+</sup>-звездчатыми клетками в зависимости от генотипа ВГС**

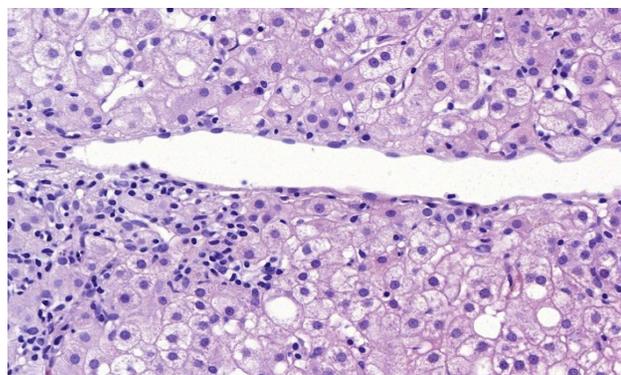
Table 5

**Correlation between CD8<sup>+</sup> lymphocytes, CD68<sup>+</sup> macrophages and SMA<sup>+</sup> stellate cells depending on the HCV genotype**

Количество	Генотип 1	Генотип 3
	n = 28	n = 29
CD8/CD68abs	<b>0,67</b>	<b>0,45</b>
CD8/CD68 %	<b>0,65</b>	<b>0,56</b>
CD8/SMAabs	0,31	<b>0,44</b>
CD8/SMA %	0,07	<b>0,44</b>
CD68abs/SMAabs	<b>0,5</b>	0,18
CD68abs/SMA %	<b>0,5</b>	<b>0,49</b>
CD68 %/SMAabs	<b>0,47</b>	0,33
CD68 %/SMA %	<b>0,42</b>	<b>0,56</b>



а



б

Рис. 1. Различная степень выраженности клеточно-опосредованного иммунного повреждения, обусловленного инфильтрацией паренхимы печени лимфоцитами: а – слабо выраженные ступенчатые некрозы и слабо выраженная инфильтрация паренхимы печени лимфоцитами при низкой гистологической активности ХГС; б – обширные ступенчатые и мостовидные некрозы и выраженная инфильтрация паренхимы печени лимфоцитами при высокой гистологической активности ХГС.

Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×400

Fig. 1. Different degree of severity of cell-mediated immune damage caused by infiltration of liver parenchyma by lymphocytes: а – mild piecemeal necrosis and mild infiltration of liver parenchyma by lymphocytes with low histological activity of CHC; б – extensive piecemeal and bridging necroses and pronounced infiltration of liver parenchyma by lymphocytes with high histological activity of CHC. Staining with hematoxylin and eosin, ×400

между CD8<sup>+</sup>-лимфоцитами и SMA<sup>+</sup>-звездчатыми клетками. Взаимосвязи между характеристиками CD68<sup>+</sup>-макрофагов и SMA<sup>+</sup>-звездчатых клеток также отличались (табл. 5).

Согласно современным представлениям, в патогенезе фиброза при ХГС ключевую роль играют взаимодействия непаренхиматозных клеток печени и, прежде всего, Т-лимфоцитов, макрофагов и ЗК. Как было показано в нашем исследовании, данные взаимодействия нелинейны и в значительной степени зависят от таких факторов, как гистологическая активность, стадия фиброза и генотип вируса.

В многочисленных исследованиях показано, что ключевую роль в прогрессии фиброза при ХГС играет клеточно-опосредованное иммунное повреждение ткани печени, обусловленное инфильтрацией паренхимы печени лимфоцитами (рис. 1),

преимущественно за счет CD8<sup>+</sup>-субпопуляции Т-лимфоцитов [13]. Реализация процесса фиброза происходит через взаимодействие CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов, макрофагов и ЗК. Персистенция клеточно-опосредованного иммунного повреждения, обусловленная CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитами, вызывает реактивные изменения непаренхиматозных клеток печени в виде изменения их количества, а также качественных изменений в виде увеличения размеров клеток.

Нами установлено, что по мере нарастания гистологической активности происходит увеличение количества CD68<sup>+</sup>-макрофагов и SMA-alfa<sup>+</sup> ЗК, а также происходят изменения их качественных характеристик в виде значительного увеличения площади клеток, что, по-видимому, свидетельствует об изменении из функционального состояния, возможно, о наличии компенсаторной гипертрофии

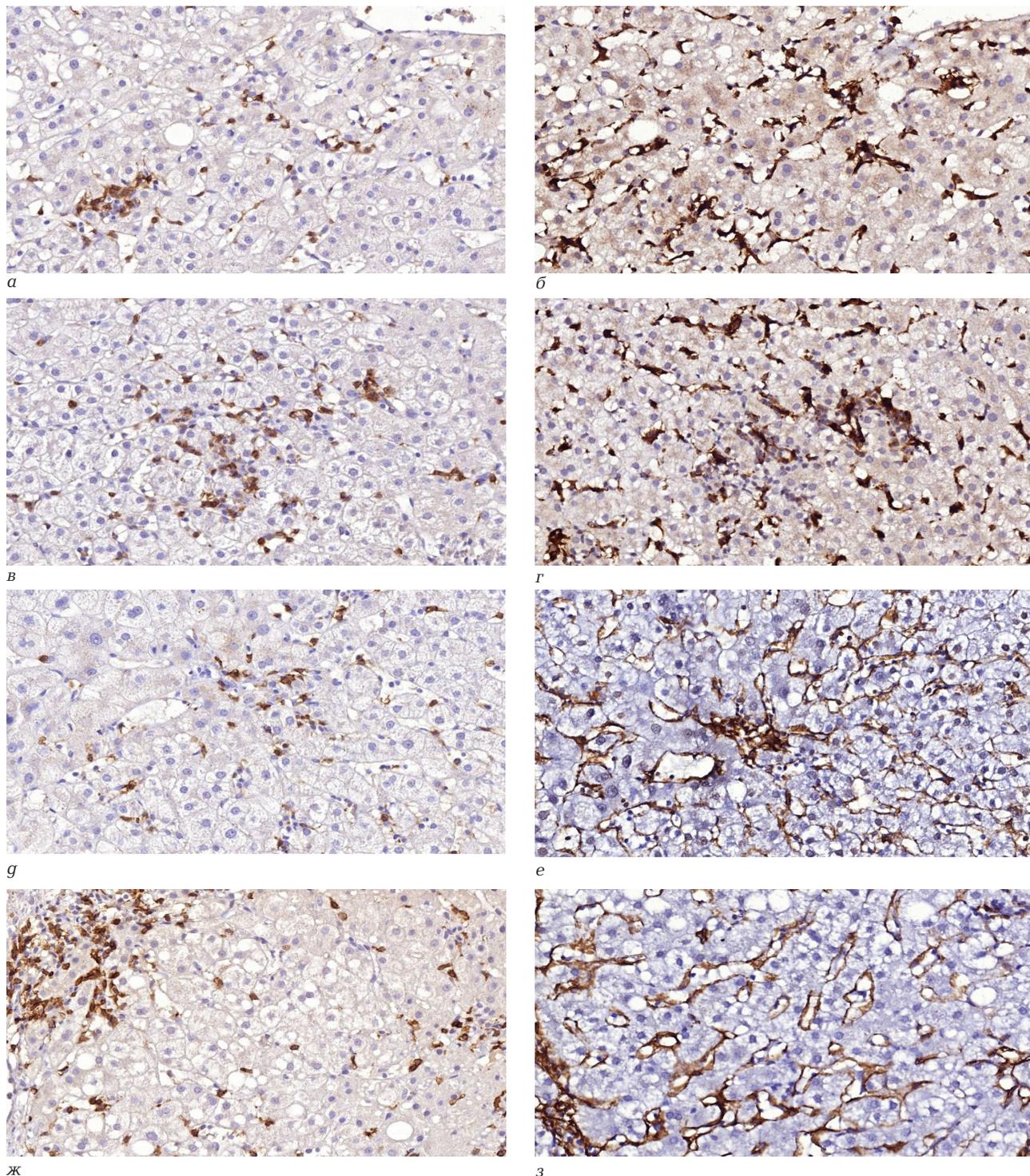


Рис. 2. Взаимосвязь гистологической активности, обусловленной инфильтрацией ткани печени CD8 + -лимфоцитами, и степени активации CD68 + -макрофагов и SMA-alfa + ЗК: *a* – умеренно выраженная инфильтрация паренхимы печени CD8 + -лимфоцитами при умеренном ИГА (A2 по METAVIR); *б* – выраженная активация CD68 + -макрофагов, сопутствующая умеренной гистологической активности; *в* – выраженная инфильтрация паренхимы печени CD8 + -лимфоцитами при высоком ИГА (A3 по METAVIR); *г* – выраженная активация CD68 + -макрофагов при высокой гистологической активности, сравнимая с аналогичной при умеренном ИГА; *г* – умеренно выраженная инфильтрация паренхимы печени CD8 + -лимфоцитами при умеренном ИГА (A2 по METAVIR); *е* – выраженная активация SMA-alfa + ЗК при умеренной гистологической активности; *ж* – выраженная инфильтрация паренхимы печени CD8 + -лимфоцитами при высоком ИГА (A3 по METAVIR); *з* – выраженная активация SMA-alfa + ЗК при высокой гистологической активности, сравнимая с аналогичной при умеренном ИГА. ИГХИ, DAB, ув.  $\times 400$

Fig. 2. Interaction of histological activity caused by infiltration of liver tissue by CD8 + lymphocytes and the degree of activation of CD68 + macrophages and SMA-alfa + SC: *a* – moderate infiltration of liver parenchyma by CD8 + lymphocytes with moderate histological activity index (A2 by METAVIR); *б* – pronounced activation of CD68 + macrophages, concomitant with moderate histological activity; *в* – pronounced infiltration of liver parenchyma by CD8 + lymphocytes with high histological activity index (A3 by METAVIR); *г* – moderate infiltration of liver parenchyma by CD8 + lymphocytes with moderate histological activity index (A2 by METAVIR); *е* – pronounced activation of SMA-alfa + SC with moderate histological activity; *ж* – pronounced infiltration of liver parenchyma by CD8 + lymphocytes with high histological activity index (A3 by METAVIR); *з* – pronounced activation of SMA-alfa + SC with high histological activity, comparable to that with moderate histological activity index. IHC test, DAB,  $\times 400$

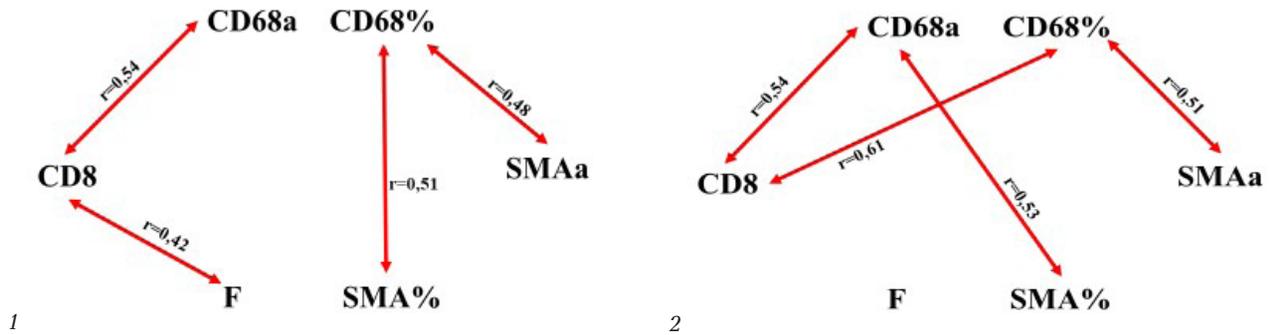


Рис. 3. Схематическое изображение межклеточных взаимосвязей в зависимости от стадии фиброза (F) при низкой (1) и умеренной (2) гистологической активности

Fig. 3. Schematic illustration of intercellular interactions for fibrosis stage (F) with low (1) and moderate (2) histological activity

клеток. Характерно, что максимальные изменения количества и площади непаренхиматозных клеток развиваются уже при умеренной гистологической активности хронического гепатита и сохраняются при дальнейшем ее увеличении. Выявленные изменения были подтверждены при проведении иммуногистохимического исследования (рис. 2).

Выявленные закономерности подтверждались и результатами корреляционного анализа. При умеренной гистологической активности, в отличие от низкой, отмечалась более выраженная активация макрофагов (CD68 %), связанная с более высоким содержанием CD8 + -лимфоцитов, а также более выраженная активация ЗК (SMA-alfa%), связанная с более высоким содержанием макрофагов (CD68a) (рис. 3).

Полученные данные свидетельствуют о том, что в основе прогрессирования фиброза, обусловленного клеточно-опосредованным иммунным повреждением, проявляющимся гистологической активностью хронического гепатита, лежат изменения абсолютного количества и структурные изменения непаренхиматозных клеток печени. В нашем исследовании не выявлены достоверные КВ при высокой гистологической активности (А3), что, вероятно, связано с рассинхронизацией сложных механизмов межклеточных взаимодействий.

В проведенном исследовании продемонстрированы различия межклеточных взаимосвязей и в зависимости от степени выраженности (стадии) фиброза. Согласно результатам корреляционного анализа, при слабо выраженном фиброзе (F1) выявлены взаимосвязи между всеми основными популяциями непаренхиматозных клеток, что, по всей видимости, свидетельствует о том, что именно на стадии слабо выраженного фиброза происходит формирование и закрепление патологического характера данных взаимодействий (рис. 4).

Аналогичных достоверных КВ при отсутствии фиброза (F0) и выраженном фиброзе (F2-3) печени в нашем исследовании выявлено не было. Вероятно, при F0 межклеточные взаимосвязи еще не приобрели устойчивый патологический характер. В то время как при выраженном фиброзе, вероятно, происходит рассинхронизация сложных меж-

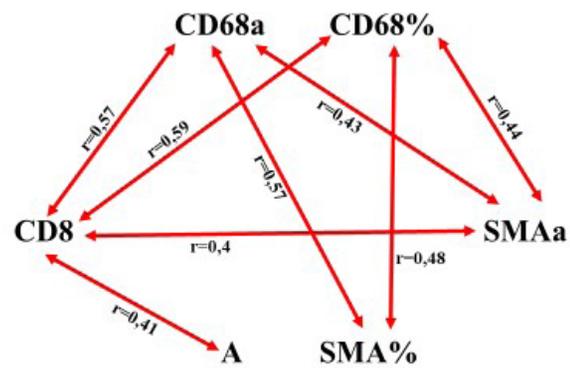


Рис. 4. Схематическое изображение межклеточных взаимосвязей в зависимости от гистологической активности (A) при слабо выраженном фиброзе (F1)

Fig. 4. Schematic illustration of intercellular interactions for histological activity (A) with mild fibrosis (F1)

клеточных взаимосвязей в условиях выраженного клеточно-опосредованного иммунного повреждения (высокой гистологической активности гепатита), которая отчасти наблюдается при выраженном фиброзе.

Межклеточные взаимосвязи между Т-лимфоцитами, макрофагами и ЗК при разных генотипах вируса также отличались. При ХГС, вызванном 1-м генотипом ВГС, по мере нарастания содержания CD8 + -лимфоцитов наблюдалась более выраженная активация макрофагов (CD68a, CD68 %). В свою очередь, активация ЗК происходила посредством взаимодействия с макрофагальным звеном, без прямого участия CD8 + -лимфоцитов (рис. 5).

При ХГС, вызванном 3-м генотипом ВГС, наблюдалась иная картина: увеличение содержания CD8 + -лимфоцитов влечет за собой непосредственную активацию и макрофагов и ЗК, а именно — увеличение их количества и размеров (площади) клеток. Кроме того, эффекторная стимуляция ЗК происходит и через макрофагальное звено (CD68a, CD68%), что приводит к дополнительной их функциональной активации (SMA %) (рис. 4).

Полученные результаты демонстрируют различный патогенез фиброза при ХГС, вызванном разными генотипами ВГС. Тот факт, что при 3-м генотипе ВГС происходит Т-клеточно-

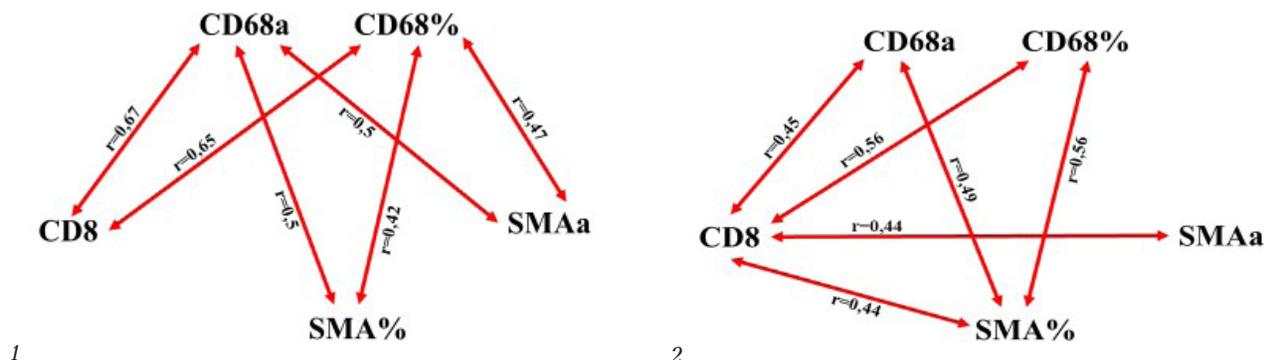


Рис. 5. Схематическое изображение межклеточных взаимосвязей при ХГС, вызванном 1-м генотипом (1) и 3-м генотипом (2) ВГС

Fig. 5. Schematic illustration of intercellular interactions in HCV caused by genotype 1 (1) and genotype 3 (2) HCV

опосредованная активация как макрофагов, так и ЗК, в сочетании с дополнительными сигналами от макрофагов, закономерно будет приводить к более выраженной активации ЗК, а значит, к более интенсивному фиброгенезу, что может определять менее благоприятный характер течения хронического вирусного гепатита.

## ВЫВОДЫ

1. Межклеточные взаимосвязи лежат в основе иммунопатологического процесса при ХГС и имеют значимые особенности в зависимости от гистологической активности, стадии фиброза и генотипа вируса.

2. Активация звездчатых клеток и макрофагов возрастает с увеличением гистологической активности гепатита, достигая максимальных значений уже при умеренном ИГА и сохраняется при высоком ИГА, что влечет за собой менее благоприятное течение заболевания в виде прогрессирования фиброза печени.

3. Закрепление патологических межклеточных взаимосвязей между лимфоцитами, макрофагами и звездчатыми клетками происходит уже на стадии слабо выраженного фиброза (F1 по METAVIR). Межклеточные взаимосвязи имеют значимые отличия в зависимости от генотипа вируса гепатита С. Генотип вируса 3-й, исходя из обусловленных им межклеточных взаимосвязей непаренхиматозных клеток печени, является причиной менее благоприятного течения хронического вирусного гепатита С.

## Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

## Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest

## Соответствие нормам этики

Авторы подтверждают, что соблюдены права людей, принимавших участие в исследовании, включая получение информированного согласия в тех случаях, когда оно необходимо, и правила обращения с животными в случаях их использования в работе. Подробная информация содержится в Правилах для авторов.

## Compliance with ethical principles

The authors confirm that they respect the rights of the people participated in the study, including obtaining informed consent when it is necessary, and the rules of treatment of animals when they are used in the study. Author Guidelines contains the detailed information.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Organization W. H. O. Guidelines for the Screening Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis C Infection // Guidelines for the Screening Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis C Infection: Updated Version. – 2016. – April.
2. Михайлов М. И., Ющук Н. Д., Малинникова Е. Ю. и др. Проект программы по контролю и ликвидации вирусных гепатитов как проблемы общественного здоровья в Российской Федерации // Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. – 2018. – Т. 7, № 2 (25). – С. 52–58.
3. Shi J., Li Y., Chang W. et al. Current progress in host innate and adaptive immunity against hepatitis C virus infection // Hepatology International. – 2017. – Vol. 11, № 4. – P. 374–383.
4. Westbrook R. H., Dusheiko G. Natural history of hepatitis C // Journal of Hepatology. – 2014. – Vol. 61, № 1. – P. 58–68.
5. Карев В. Е., Цинзерлинг В. А., Лобзин Ю. В. Сравнительная характеристика фиброгенеза в печени при хронической HBV- и HCV-инфекции // Клини. патофизиология. – 2015. – № 3. – С. 32–37.
6. Карев В. Е. Экспрессия FAS, FASL и BCL-2 на внутридольковых лимфоцитах в печени при различных вариантах естественного течения и исходах хронической HBV- и HCV-инфекции // Арх. патологии. – 2014. – Т. 76, № 1. – С. 16–21.
7. Bogdanos D. P. Gao B., Gershwin M. E. Liver immunology // Comprehensive Physiology. – 2013. – Vol. 3, № 2. – P. 567–598.
8. Lee U. E., Friedman S. L. Mechanisms of hepatic fibrogenesis // Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology. – 2011. – Vol. 25, № 2. – P. 195–206.
9. Weiskirchen R. Special Issue on «Cellular and Molecular Mechanisms Underlying the Pathogenesis of Hepatic Fibrosis». – 2020. – P. 1–12.
10. Tacke F. Targeting hepatic macrophages to treat liver diseases // Journal of Hepatology. – 2017. – Vol. 66, № 6. – P. 1300–1312.
11. Hepatitis C. From inflammatory pathogenesis to anti-inflammatory/hepatoprotective therapy / H. Li, M. H. Huang, J. D. Jiang, Z. G. Peng // World journal of gastroenterology. – 2018. – Vol. 24, № 47. – P. 5297–5311.

12. Bedossa P., Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C // *Hepatology*. – 1996. – Vol. 24, № 2. – P. 289–293.

13. Карабак И. А., Карев В. Е. Иммуноморфологическая характеристика фиброгенеза в печени при естественном течении хронического гепатита С // *Medline.ru. Российский биомед. журн.* – 2020. – Т. 21, № 1. – С. 920–934.

## REFERENCES

1. Organization W.H.O. Guidelines for the Screening Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis C Infection // *Guidelines for the Screening Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis C Infection: Updated Version*. 2016.

2. Mikhaylov M. I., Yushchuk N. D., Malinnikova E. Yu., Kyuregyan K. K., Isaeva O. V., Znoyko O. O., Klimova E. A. The design of the program for control and elimination of viral hepatitis as public health problem in the Russian Federation. *Infectious Diseases: News, Opinions, Training*. 2018;7(2):52–58. (In Russ.). Doi: 10.24411/2305-3496-2018-12005.

3. Shi J., Li Y., Chang W., Zhang X., Wang F. S. Current progress in host innate and adaptive immunity against hepatitis C virus infection // *Hepatology International*. 2017; 11(4):374–383.

4. Westbrook R. H., Dusheiko G. Natural history of hepatitis C // *Journal of Hepatology*. 2014;61(1):58–68.

5. Karev V. E., Tsinerling V. A., Lobzin Yu. V. Comparative characteristics of fibrogenesis in the liver with chronic

HBV-and HCV-infection // *Clinical pathophysiology*. 2015; (3): 32–37. (In Russ.).

6. Karev V. E. Fas, Fas L. and bcl-2 expression on hepatic intralobar lymphocytes in different variants of the natural course of chronic HBV and HCV infection and in its outcomes. *Arkhiv Patologii*. 2014;76(1):16–21. (In Russ.).

7. Bogdanos D. P., Gao B., Gershwin M. E. Liver immunology // *Comprehensive Physiology*. 2013;3(2):567–598.

8. Lee U. E. Friedman S. L. Mechanisms of hepatic fibrogenesis Best Practice and Research // *Clinical Gastroenterology*. 2011;25(2):195–206.

9. Weiskirchen R. Special Issue on «Cellular and Molecular Mechanisms Underlying the Pathogenesis of Hepatic Fibrosis». 2020:1–12.

10. Tacke F. Targeting hepatic macrophages to treat liver diseases // *Journal of Hepatology*. 2017;66(6):1300–1312.

11. Li H. Huang M. H., Jiang J. D., Peng Z. G. Hepatitis C: From inflammatory pathogenesis to anti-inflammatory/hepatoprotective therapy // *World journal of gastroenterology*. 2018;24(47):5297–5311.

12. Bedossa P., Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C // *Hepatology*. 1996;24(2): 289–293.

13. Karabak I. A., Karev V. E. Immunomorphological aspects of liver fibrogenesis in the natural course of chronic hepatitis C // *Medline.ru. Russian Biomedical Journal*. 2020; 21(1):920–934. (In Russ.).

## Информация об авторах

**Карабак Ирина Александровна**, младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела патоморфологии, Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-3725-7737; **Карев Вадим Евгеньевич**, доктор медицинских наук, руководитель научно-исследовательского отдела патоморфологии, Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства (Санкт-Петербург, Россия), ORCID: 0000-0002-7972-1286.

## Information about authors

**Karabak Irina A.**, Junior Research Fellow of the Research Department of Pathomorphology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-3725-7737; **Karev Vadim E.**, Dr. of Sci. (Med.), Head of the Research Department of Pathomorphology, Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, (Saint Petersburg, Russia), ORCID: 0000-0002-7972-1286.