

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.36-002.2:616-092.18

Михайлов А.О., Попов А.Ф., Иванова Н.С., Симакова А.И.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ В МЕТОДОМ ДНК-КОМЕТ

ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России, 690002, г. Владивосток, Россия

Исследование степени повреждения ДНК лимфоцитов при хроническом вирусном гепатите В (ХВГВ) представляет интерес по ряду причин. Во-первых, можно косвенно судить о глубине патологического процесса на уровне всего организма, учитывая патогенетические особенности репликации вируса гепатита. Во-вторых, дать оценку степени генотоксического действия вируса на клетки крови, что играет существенную роль при формировании иммунного ответа организма. Исследование проведено на 50 образцах крови больных ХВГВ, которые в зависимости от степени выраженности фиброза по шкале METAVIR поделены на 5 групп (в каждой группе $n = 10$): F0, F1, F2, F3, F4. Контрольную группу составили 43 добровольца, сопоставимых по полу и возрасту, без сопутствующих заболеваний. Из образцов крови, взятых во время поступления в стационар, выделяли лимфоциты на градиенте плотности фиколл-урографин и исследовали степень повреждения ДНК в клетках щелочным вариантом метода ДНК-комет. Отмечалась прямая зависимость между % ДНК в хвосте комет и степенью фиброза печени. Так, в контрольной группе доля ДНК в хвосте кометы составила $3,75 \pm 1,44\%$; в группе F0 – $5,07 \pm 1,25\%$; F1 – $6,79 \pm 1,79\%$, F2 – $7,65 \pm 1,62\%$, F3 – $8,05 \pm 1,18\%$, F4 – $9,84 \pm 3,09\%$. Статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой наблюдались в группах с выраженностью фиброза – F2, F3, F4. Также отмечалось наличие апоптотических клеток в группах F3 и F4 – 1 и 0,88% соответственно. Выявленные изменения важны в описании ассоциированных с повреждением молекулярных паттернов патогенеза хронического вирусного гепатита В, а также могут служить косвенным признаком стадии фиброза печени.

Ключевые слова: метод ДНК-комет; гепатит В; фиброз.

Для цитирования: Михайлов А.О., Попов А.Ф., Иванова Н.С., Симакова А.И. Исследование повреждений ДНК лимфоцитов у больных хроническим вирусным гепатитом В методом ДНК-комет. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2017; 22(2): 64-68. DOI: 10.17816/EID42629

Mikhailov A.O., Popov A.F., Ivanova N.S., Simakova A.I.

THE INVESTIGATION OF DNA DAMAGE IN LYMPHOCYTES BY COMET ASSAY IN CHRONIC VIRAL HEPATITIS B PATIENTS

The investigation of the degree of the lymphocyte DNA damage in chronic viral hepatitis B (HBV) patients is of interest for several reasons. Firstly, it is possible to judge indirectly about the depth of the pathological process at the level of the whole organism, with bearing in mind features of the pathogenic replication of hepatitis B virus. Secondly, it is possible to give an estimation of the degree of genotoxic impact of the virus on blood cells that plays an essential role in the shaping of the immune response of the body. The study was executed on 50 blood samples from HBV patients, divided in 5 groups on the fibrosis grade according to METAVIR score: F0 ($n = 10$), F1 ($N = 10$), F2 ($N = 10$), F3 ($n = 10$), F4 ($n = 10$). The control group was consisted of 43 volunteers matched by the age and gender without concomitant diseases. From blood samples taken at the time of the admission to the hospital lymphocytes were isolated by density gradient on Ficoll-urografin. The degree of DNA damage in lymphocytes was determined by virtue of alkaline version of the DNA comet assay. There was noted the direct relationship between an increase in % DNA in the tail of comets and the grade of liver fibrosis. So in the control group, % DNA in the tail accounted for 3.75 ± 1.44 . In the F0 group % of DNA in the tail was 5.07 ± 1.25 , F1 – 6.79 ± 1.79 , F2 – 7.65 ± 1.62 , F3 – 8.05 ± 1.18 , F4 – 9.84 ± 3.09 . It is noteworthy that in groups F2, F3, F4 differences were statistically significant in comparison with the control group. Also there was noted the presence of apoptotic cells in F3, F4 groups: 1 and 0.88%, respectively. Identified changes are both important in the description of to molecular patterns of the pathogenesis of chronic hepatitis B associated with damage, and also can serve as an indirect indication of the stage of liver fibrosis.

Key words: DNA comet assay; hepatitis B; fibrosis.

For citation: Mikhailov A.O., Popov A.F., Ivanova N.S., Simakova A.I. The investigation of DNA damage in lymphocytes by comet assay in chronic viral hepatitis b patients. *Epidemiologiya i Infektsionnye bolezni (Epidemiology and Infectious Diseases, Russian journal)*. 2017; 22(2): 64-68. (In Russ.). DOI: 10.17816/EID42629

For correspondence: Aleksandr O. Mikhailov, MD, postgraduate student of the Department of Infectious diseases of the Pacific State Medical University, 2, Ostryakov Avenue, Vladivostok, 690002, Russian Federation. E-mail: mao1991@mail.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received 11.01.2017

Accepted 24.03.2017

Введение

При вирусном гепатите В у больных повышается риск развития гепатоцеллюлярной карциномы[1], что

Для корреспонденции: Михайлов Александр Олегович, аспирант каф. инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России; e-mail: mao1991@mail.ru

может являться апогеем генотоксического и прямого цитотоксического влияния вируса на клетки организма хозяина. Известно также, что у пациентов на стадии цирроза печени в исходе хронического вирусного гепатита В (ХВГВ) в лимфоцитах периферической крови отмечается увеличение частоты сестринского хроматидного обмена [2]. Этот факт может свидетельствовать о репликативном стрессе, поперечных сшивках ДНК или блокировке репликационной вилки. Установлено, что

в лимфоцитах больных гепатитом В выше количество хроматидных поломок [3]. Существуют и исследования, показывающие связь повреждений ДНК в лимфоцитах с уровнем 8-гидроксигуанозина в лимфоцитах [4], однако данные параметры выражены сильнее у больных с хроническим вирусным гепатитом С по сравнению с больными ХВГВ. В отношении увеличения при ХВГ частоты повреждений ДНК в лимфоцитах периферической крови в литературе нет единого мнения. Одни авторы это подтверждают [5, 6], другие, наоборот, отрицают [7, 8]. Вместе с тем по характеристике повреждений ДНК лимфоцитов можно косвенно судить о глубине и интенсивности патологического процесса, учитывая патогенетические особенности репликации частиц вируса гепатита В [10]. В связи с этим представляет интерес взаимосвязь выраженности фибротических процессов в печени с изменениями в генетическом аппарате мононуклеаров периферической крови.

Цель работы – установить количество одно- и двуниевых разрывов ДНК в лимфоцитах, выделенных у пациентов с ХВГВ в зависимости от степени выраженности фиброза печени по данным эластометрии, а также оценить методом ДНК-комет долю лимфоцитов, погибших вследствие апоптоза и некроза у этих больных.

Материалы и методы

В исследовании в 2012–2015 гг. приняли участие пациенты инфекционного отделения ГБУЗ «Краевая клиническая больница № 2» и ГБУЗ «Краевая клиническая инфекционная больница» – 50 человек. Контрольную группу составили 43 добровольца без сопутствующих аутоиммунных, острых и хронических заболеваний органов кровообращения, почек, поджелудочной железы, печени, сопоставимых по полу и возрасту с основной группой. В крови добровольцев маркеры вирусных гепатитов и ВИЧ не обнаружены.

Возраст больных колебался в пределах 25–60 лет, средний возраст составил $39,7 \pm 12,3$ года; из них мужчин было 29, женщин – 21. Исследуемых пациентов разделили на 6 групп: F0 – пациенты со степенью фиброза F0 ($n = 10$), F1 – пациенты со степенью фиброза F1 ($n = 10$), F2 – пациенты со степенью фиброза F2 ($n = 10$), F3 – пациенты со степенью фиброза F3 ($n = 10$), F4 – пациенты со степенью фиброза F4 ($n = 10$) и контрольную группу ($n = 43$) (табл. 1).

Критериями включения пациентов в исследование были наличие подтвержденного методом иммуноферментного анализа (ИФА) гепатита В с давностью заболевания более 6 мес, идентифицированной методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с чувствительностью не менее 20 МЕ/мл ДНК вируса гепатита В (HBV). Степень выраженности фиброза печени определяли на аппарате FibroScan по классификации METAVIR. Биохимическую активность при гепатите устанавливали на основании лабораторных синдромов мезенхимального воспаления, цитолиза, холестаза. Критериями исключения служили: признаки хронической артериальной недостаточности, ишемическая болезнь сердца, сердечная недостаточность, сахарный диабет, инфекционные и сопутствующие заболевания внутренних органов в стадии обострения, беременность, психические заболевания, курение. Все больные получали стандартную патогенетическую терапию ХВГВ.

Исследование проб крови проводили однократно – при поступлении у пациентов забирали 2 мл цельной крови в пробирки, содержащие антикоагулянт. Выделение лимфоцитов проводили поэтапным методом с использованием градиента фиколл-урографина ($\rho = 1,077$ г/см³) в стерильных условиях (Woyum A., 1968). Цельную кровь, разведенную питательной средой 199 (1:2), наслаивали на раствор фиколл-урографина и центрифугировали при комнатной температуре в центрифуге с горизонтальным ротором при 2000 оборотов/мин в течение 30 мин. Выделенные клетки трижды отмывали средой 199, центрифугируя по 10 мин при 1000 оборотов/мин.

Оценку степени повреждения ДНК проводили методом ДНК-комет в щелочной среде (Olive P. et al., 1990) [9]. Отмытые лимфоциты (50 мкл) смешивали с 500 мкл 1% раствора легкоплавкой агарозы («Sigma»), приготовленной на фосфатно-солевом буфере при температуре 37°C до финальной концентрации 10^4 клеток/мл. Затем 60 мкл клеточной суспензии наносили на слайды, предварительно покрытые нормоплавкой агарозой («Sigma»), и накрывали покровными стеклами. Слайды для застывания агарозы хранили 5 мин при температуре 4°C. После затвердевания агарозы снимали покровные стекла и помещали препараты в холодный (4°C) лизирующий буфер (10 mM Tris-HCl, pH 10,0, 2,5 mM NaCl, 100 mM EDTA-Na₂, 1% TritonX-100, 10% ДМСО) на 1 ч при 4°C. По окончании лизиса препараты помещали в камеру для электрофореза, содержащую щелочной буфер (300 mM NaOH, 1 mM EDTA-Na₂) на 40 мин. Далее проводили электрофорез при напряжении 20 В и силе тока 300 мА в течение 25 мин. Слайды после электрофореза трижды по 5 мин обрабатывали нейтральным буфером (0,4 M Tris-HCl pH 7,5), затем дегидратировали метанолом и красили раствором этидия бромид (2 мкг/мл). Препараты ДНК просматривали на флуоресцентном микроскопе Carl Zeiss при увеличении в 200 раз. Полученные изображения анализировали с помощью программы Comet Score. Анализу подвергались не менее 100 клеток каждого препарата. Данная модификация метода позволяет оценить количество одно- и двуниевых разрывов ДНК ядродержащих клеток. С помощью этой программы представляется возможным классифицировать и подсчитать при визуализации клетки, погибшие в процессе апоптоза и некроза.

Для оценки степени повреждения ДНК использовали показатель содержания ДНК в хвосте комет (% DNA t), также регистрировали количество комет с повреждениями ДНК более 50%, известных в литературе как апоптотические ДНК-кометы. Некротические клетки определяли как широкие рыхло-диффузные ДНК-кометы неправильной формы.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета Statistica 6.4, Microsoft Office Excel 2007. Проверку нормальности распределения

Таблица 1

Половозрастная характеристика исследуемого контингента больных

Показатель	Группа					
	F0	F1	F2	F3	F4	контроль
Число пациентов	10	10	10	10	10	43
Средний возраст, годы	$31,0 \pm 12,7$	$37,0 \pm 11,8$	$38,7 \pm 15,3$	$36,3 \pm 10,8$	$35,5 \pm 12,0$	39 ± 12
Число мужчин/женщин в группе	5/5	7/3	8/2	4/6	5/5	25/18

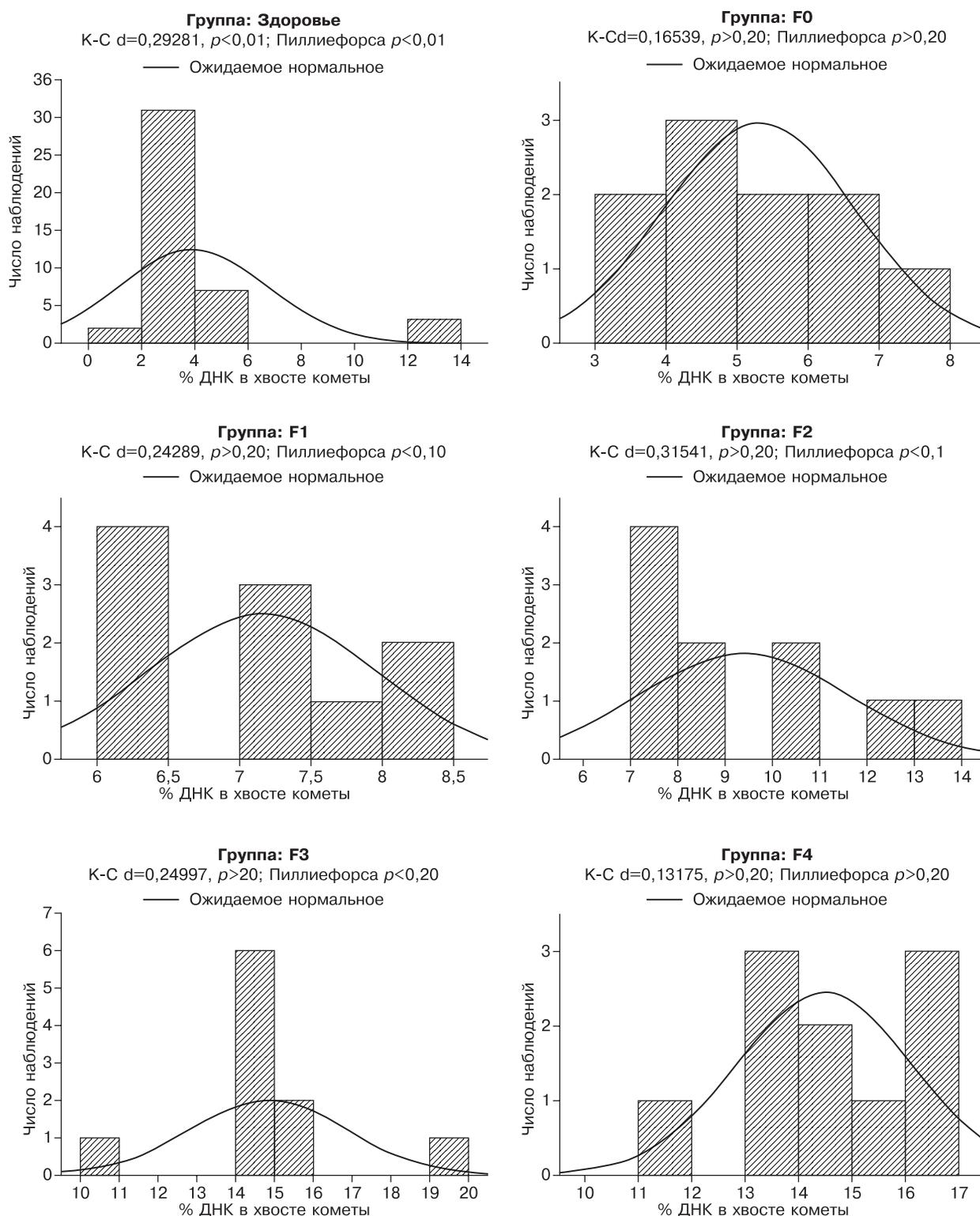


Рис. 1. Содержание ДНК в хвосте кометы по группам.

количественных параметров проводили с помощью критериев Колмогорова–Смирнова, Лиллиефорса и Шапиро–Уилка. Описание совокупности и разработка референтных интервалов уровня поврежденности ДНК мононуклеарных клеток крови проводились методом перцентилей, с использованием показателей медианы (P50), верхних и нижних децилей (P10 и

P90), квартилей (P25 и P75), минимума (P0) и максимума (P100). За верхнюю границу нормы изучаемого признака взят показатель P75. Для сравнения количественных показателей групп между собой использовали метод Тьюки для неравных групп (Tukey HSD for unequal N). В исследовании результаты считались значимыми при $p < 0,05$.

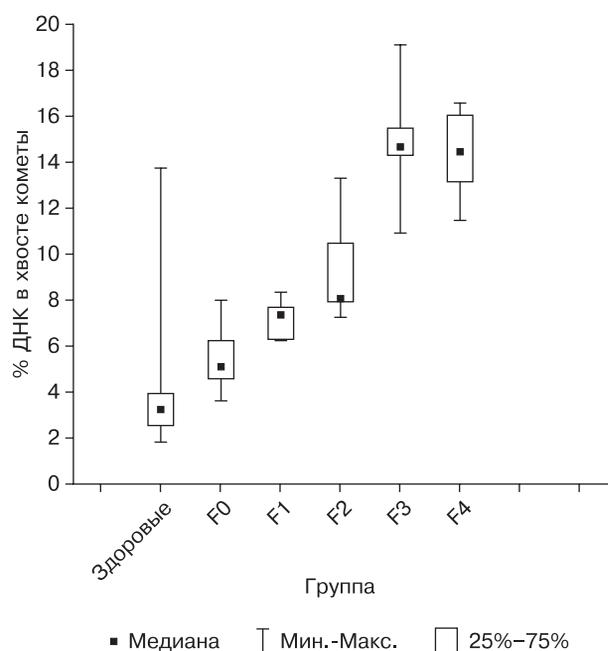


Рис. 2. Среднегрупповые значения показателя %ДНК в хвосте кометы.

Результаты

По полученным результатам, показанным на гистограммах, видно, что с увеличением степени фиброза, оцениваемого по шкале METAVIR, у пациентов с ХВГВ показатели % ДНК в хвосте кометы по сравнению с показателями контрольной группы смещаются в правую сторону, то есть в сторону увеличения (рис. 1).

На рис. 2, который демонстрирует межгрупповые различия, также можно отметить, что есть четкая зависимость между степенью фиброза и степенью разрушения ДНК лимфоцитов периферической крови у больных ХВГВ.

Среднегрупповые значения (табл. 2) в группах F2, F3, F4 ($p < 0,001$), F1 ($p < 0,5$) достоверно отличались от показателей контрольной группы. При этом достоверных различий при отсутствии фибротических изменений в печени (группа F0) по сравнению со здоровыми лицами не выявлено. В контрольной группе медиана составила $3,75 \pm 1,44\%$, а в группе F4 – $9,84 \pm 3,09\%$, т. е.

Таблица 2

Характеристика повреждений ДНК лимфоцитов у больных ХВГВ

Группа	% ДНК в хвосте кометы (Median [Q25%; Q75%])	% апоптотических клеток	% некротических клеток
Здоровые	$3,75 \pm 1,44$ [2,69; 4,48]	0	0
F0	$5,07 \pm 1,25$ [4,6; 5,6]	0	0
F1	$6,79 \pm 1,79$ [5,15; 7,87]*	0	0
F2	$7,65 \pm 1,62$ [7,25; 8,6]**	0	0
F3	$8,05 \pm 1,18$ [7,03; 8,89]**	1	0
F4	$9,84 \pm 3,09$ [6,78; 12,84]**	0,88	0

Примечание. * – $p < 0,5$; ** – $p < 0,01$.

степень разрушения ДНК лимфоцитов оказалась в этой группе наиболее значительной.

Апоптотические кометы присутствовали в группах F3 и F4, что составило 1 и 0,88% соответственно от общей популяции клеток (рис. 3), а в контрольной группе и группах F0, F1, F2 такие клетки отсутствовали. Во всех группах пациентов не было зарегистрировано клеток, погибших вследствие некроза.

Обсуждение

Анализируя имеющиеся данные, в настоящее время можно предположить три патогенетически значимых механизма для описания феномена увеличения степени повреждения ДНК лимфоцитов в периферической крови у больных ХВГВ.

Во-первых, это увеличение уровня активных форм кислорода и развитие окислительного стресса, который включает не только пероксидное окисление липидов, но и пероксидное окисление белков и нуклеиновых кислот [11].

Вторым механизмом может быть непосредственная генотоксичность вируса и разрушение им структур клетки, а также его негативное эпигенетическое влияние, что в дальнейшем проявляется в виде лимфопролиферативных заболеваний, трансформации фиброза в гепатоцеллюлярную карциному и др. [12].

Следует учитывать и третий механизм в генотоксичности ВГВ – это увеличение концентрации факторов воспаления: ФНО α , ФНО β , ИЛ-6, ИЛ-17, ИЛ-1 β , NSE

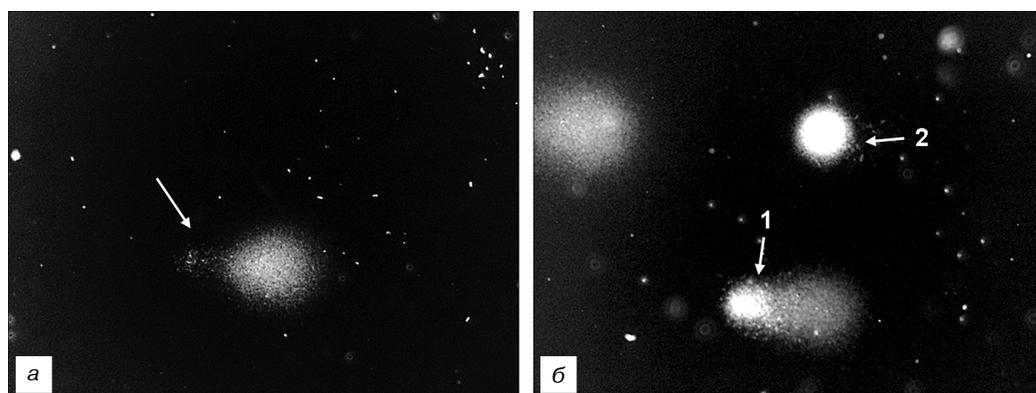


Рис. 3. Микрофотографии слайдов с ДНК-кометами (окраска – этидий бромид, увеличение $\times 200$). а – пример ДНК-кометы, соответствующий апоптотической клетке пациента из группы F3; б – пример ДНК-комет пациента из группы F4: под цифрой 1 обозначена комета с % DNA t – 44,34%, под цифрой 2 – 5,78%.

и др. [13, 14]. Применительно к гепатоциту все эти три механизма в итоге инициируют онкогены, активируют патоген-ассоциированные молекулярные паттерны и ассоциированные с повреждением молекулярные паттерны, что в конечном счете увеличивает вероятность развития гепатоцеллюлярной карциномы.

Заключение

Выявлен генотоксический эффект вируса гепатита В на ДНК лимфоцитов клеток периферической крови у пациентов с хроническим течением заболевания. Отмечено также увеличение степени фрагментации ДНК лимфоцитов в зависимости от степени фиброза печени по шкале METAVIR. Последнюю особенность можно использовать в качестве неспецифического маркера, отражающего глубину фибротических изменений в печени у таких пациентов.

Учитывая изложенное, необходимо продолжить дальнейшее изучение патоген-ассоциированных молекулярных паттернов и ассоциированных с повреждающими факторами молекулярных паттернов в патогенезе фиброобразования при хронических вирусных гепатитах, что представляется весьма перспективным в качестве прогностических моделей для оценки риска развития гепатоцеллюлярной карциномы.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Balogh J., Victor D., Asham E.H., Burroughs S.G. Hepatocellular carcinoma: a review. *J. Hepatocell. Carcinoma*. 2016; 3: 41–53.
- Ucur A., Palanduz S., Cefle K., Ozturk S., Tutkan G., Vatansever S. et al. Sister chromatid exchange and mitotic index in patients with cirrhosis related to hepatitis B and C viruses and in chronic carriers. *Hepatogastroenterology*. 2003; 50 (54): 2137–40.
- Bhargava A., Khan S., Panwar H., Pathak N., Punde R.P. et al. Occult hepatitis B virus infection with low viremia induces DNA damage, apoptosis and oxidative stress in peripheral blood lymphocytes. *Virus Res*. 2010; 153 (1): 143–50.
- Kasai H. *What causes human cancer?* Approaches from the chemistry of DNA damage. *Free Genes Environ*. 2016; 38: 19.
- Bolukbas C., Bolukbas F.F., Kocyigit A., Aslan M., Selek S. et al. Relationship between levels of DNA damage in lymphocytes and histopathological severity of chronic hepatitis C and various clinical forms of hepatitis B. *J. Gastroenterol. Hepatol*. 2006; 21 (3): 610–6.
- Grossi S., Sumberaz A., Gosmar M., Mattioli F., Testino G., Martelli A. DNA damage in peripheral blood lymphocytes of patients with cirrhosis related to alcohol abuse or to hepatitis B and C viruses. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol*. 2008; 20 (1): 22–5.
- Sakae P.N., Ihara S.S., Ribeiro D.A., de Carvalho L., Parise E.R. Insulin resistance is associated with DNA damage in peripheral blood cells in non-diabetic patients with genotype 1 chronic hepatitis C. *Free Radic. Res*. 2013; 47 (9): 750–6.
- Решетняк В.И., Шарафанова Т.И., Ильченко Л.Ю. Порошенко Г.Г. Исследование структуры ДНК лимфоцитов периферической крови у больных хроническими вирусными поражениями печени. *Бюлл. экпер. биол*. 2002; (4): 459–62.
- Olive P.L., Banáth J.P., Durand R.E. Detection of etoposide resistance by measuring DNA damage in individual Chinese hamster cells. *J. Natl. Cancer Inst*. 1990; 82 (9): 779–83.
- Байкова Т.А., Лопаткина Т.Н. Многообразие внепеченочных проявлений хронических вирусных гепатитов В и С, общие принципы лечения. *Тер. арх*. 2013; 85 (4): 106–10.
- Alavian S.M., Showraki A. Hepatitis B and its relationship with oxidative stress. *Hepat. Mon*. 2016; 16 (9): e37 973.
- Tarocchi M., Polvani S., Marroncini G., Galli A. Molecular

mechanism of hepatitis B virus-induced hepatocarcinogenesis. *World J. Gastroenterol*. 2014; 20 (33): 11 630–40.

- Дюйзен И.В., Иванис В.А., Михайлов А.О., Менчинская Е.С. и др. Исследование содержания нейрональных маркеров при некоторых инфекционных заболеваниях. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2015; 60 (2): 27–30.
- Su T.H., Kao J.H., Liu C.J. Molecular mechanism and treatment of viral hepatitis-related liver fibrosis. *Int. J. Mol. Sci*. 2014; 15 (6): 10 578–604.

REFERENCES

- Balogh J., Victor D., Asham E.H., Burroughs S.G. Hepatocellular carcinoma: a review. *J. Hepatocell. Carcinoma*. 2016; 3: 41–53.
- Ucur A., Palanduz S., Cefle K., Ozturk S., Tutkan G., Vatansever S. et al. Sister chromatid exchange and mitotic index in patients with cirrhosis related to hepatitis B and C viruses and in chronic carriers. *Hepatogastroenterology*. 2003; 50 (54): 2137–40.
- Bhargava A., Khan S., Panwar H., Pathak N., Punde R.P. et al. Occult hepatitis B virus infection with low viremia induces DNA damage, apoptosis and oxidative stress in peripheral blood lymphocytes. *Virus Res*. 2010; 153 (1): 143–50.
- Kasai H. *What causes human cancer?* Approaches from the chemistry of DNA damage. *Free Genes Environ*. 2016; 38: 19.
- Bolukbas C., Bolukbas F.F., Kocyigit A., Aslan M., Selek S. et al. Relationship between levels of DNA damage in lymphocytes and histopathological severity of chronic hepatitis C and various clinical forms of hepatitis B. *J. Gastroenterol. Hepatol*. 2006; 21 (3): 610–6.
- Grossi S., Sumberaz A., Gosmar M., Mattioli F., Testino G., Martelli A. DNA damage in peripheral blood lymphocytes of patients with cirrhosis related to alcohol abuse or to hepatitis B and C viruses. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol*. 2008; 20 (1): 22–5.
- Sakae P.N., Ihara S.S., Ribeiro D.A., de Carvalho L., Parise E.R. Insulin resistance is associated with DNA damage in peripheral blood cells in non-diabetic patients with genotype 1 chronic hepatitis C. *Free Radic. Res*. 2013; 47 (9): 750–6.
- Reshetnyak V.I., Sharafanova T.I., Il'chenko L.Yu., Poroshenko G.G. Issledovanie struktury DNA structure in peripheral blood lymphocytes from patients with chronic viral liver damages. *Byull. eksper. biol*. 2002; (4): 459–62. (in Russian)
- Olive P.L., Banáth J.P., Durand R.E. Detection of etoposide resistance by measuring DNA damage in individual Chinese hamster cells. *J. Natl. Cancer Inst*. 1990; 82 (9): 779–83.
- Baykova T.A., Lopatkina T.N. The variety of extrahepatic manifestations of chronic viral hepatitis B and C, the general principles of treatment. *Ter. arkh*. 2013; 85 (4): 106–10. (in Russian)
- Alavian S.M., Showraki A. Hepatitis B and its relationship with oxidative stress. *Hepat. Mon*. 2016; 16 (9): e37 973.
- Tarocchi M., Polvani S., Marroncini G., Galli A. Molecular mechanism of hepatitis B virus-induced hepatocarcinogenesis. *World J. Gastroenterol*. 2014; 20 (33): 11 630–40.
- Dyuyzen I.V., Ivanis V.A., Mikhaylov A.O., Menchinskaya E.S. et al. Study the content of neuronal markers in some infectious diseases. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2015; 60(2): 27–30. (in Russian)
- Su T.H., Kao J.H., Liu C.J. Molecular mechanism and treatment of viral hepatitis-related liver fibrosis. *Int. J. Mol. Sci*. 2014; 15 (6): 10 578–604.

Поступила 11.01.2017

Принята к печати 24.03.2017

Сведения об авторах:

Попов Александр Федорович, доктор мед. наук, проф. каф. инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России; **Иванова Надежда Семеновна**, канд. хим. наук, доцент, зав. каф. общей и биологической химии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России; **Симакова Анна Ивановна**, доктор мед. наук, зав. каф. инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России.