

КЛИНИКО-ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФИБРОГЕНЕЗА В ПЕЧЕНИ, ОБУСЛОВЛЕННОГО ВИРУСОМ ГЕПАТИТА С 1 И 3 ГЕНОТИПА**И.А.Карабак, В.Е.Карев****CLINICAL AND IMMUNOMORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF LIVER FIBROGENESIS CAUSED BY HEPATITIS C VIRUS GENOTYPES 1 AND 3****I.A.Karabak, V.E.Karev***Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, irina-karabak@mail.ru*

Вирусный гепатит С широко распространен во всем мире и является главной причиной развития фиброза печени, цирроза и гепатоцеллюлярного рака. Сведения о роли различных генотипов вируса гепатита С (ВГС) в патогенезе фиброза печени противоречивы. Объектом исследования явились 57 биоптатов печени взрослых пациентов с хроническим гепатитом С (ХГС), вызванным 1-м и 3-м генотипом ВГС ($n = 28$ и 29 соответственно). С помощью гистологического и иммуногистоморфометрического метода производился подсчет внутрипеченочных CD8+Т-лимфоцитов, CD68+макрофагов, SMA-alfa+звездчатых клеток. Анализовалась взаимосвязь данных показателей с индексом гистологической активности (ИГА), стадией фиброза и выраженностью цитолиза (ALT). Было выявлено, что при ХГС, вызванном 3-м генотипом, в отличие от 1-го генотипа наблюдалась более выраженная внутрипеченочная инфильтрация CD8+Т-лимфоцитами, лежащая в основе более высокой гистологической активности и более выраженного цитолитического синдрома. Для ХГС, вызванного 3-м генотипом, характерна более выраженная активация звездчатых клеток печени, а для вызванного 1-м генотипом — более выраженная активация макрофагов. Таким образом, совокупность патогенетических особенностей ХГС, вызванного 3-м генотипом, лежит в основе более неблагоприятного течения данного заболевания.

Ключевые слова: хронический гепатит С, генотип, фиброгенез

Viral hepatitis C is a common disease being the main cause of liver fibrosis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. Data of various HCV-genotypes's role in the pathogenesis of liver fibrosis is contradictory and insufficiently studied. The object of our study was 57 liver biopsy samples of adult patients with chronic hepatitis C (CHC) caused by 1 and 3 HCV genotypes ($n = 28$ and 29 , respectively). Using the histological and immunohistomorphometric method, intrahepatic CD8 + T-lymphocytes, CD68 + macrophages, SMA-alfa + stellate cells were counted. We analyzed the relationship of these parameters with the histology activity index (HAI), the stage of fibrosis and the severity of cytolysis (ALT). It was found that in CHC caused by genotype 3, in contrast to genotype 1, a more prominent intrahepatic infiltration of CD8 + T-lymphocytes was observed, which underlies a higher histological activity, as well as a more pronounced cytolytic syndrome. Additionally, CHC caused by the genotype 3 was characterized by a significant activation of stellate cells. On the other hand, CHC caused by genotype 1 was notable for marked activation of macrophages. In summary, the whole of the pathogenetic characteristics of CHC caused by the genotype 3 underlies the more unfavorable course of the disease with the genotype 3 HCV.

Keywords: chronic hepatitis C, genotype, fibrogenesis

Вирусом гепатита С (ВГС) инфицировано более 170 миллионов человек во всем мире. До 80-85% случаев вирусного гепатита С протекает в хронической форме, что является источником таких осложнений, как фиброз печени, цирроз, гепатоцеллюлярная карцинома [1]. Осложнения хронического гепатита С (ХГС) развиваются за период, по разным данным, от 5 до 30 лет и, в свою очередь, составляют основной пул причин заболеваемости и смертности среди всех болезней печени. Появление новых препаратов прямого противовирусного действия значительно улучшило результаты терапии и эрадикации ВГС. Однако ХГС все еще остается глобальной проблемой из-за отсутствия вакцинации и не столь широкой доступности новой терапии [2].

Фиброз — это типовой патологический процесс организации повреждения. В случае ХГС фиброз неотделим от других патологических процессов, таких как повреждение, своеобразный иммунный ответ

и регенерация. В этих процессах играет роль не только сам ВГС, но и резидентные клеточные популяции печени (макрофаги, звездчатые клетки) и, конечно, клетки иммунной системы (Т-лимфоциты, НК-клетки) печени [3].

ВГС имеет шесть генотипов с различной распространенностью в мире: 1-й генотип — 46% и 3-й генотип — 30%, остальные генотипы: 2-й, 4-й, 6-й — 23%, 5-й — менее 1% [4]. ВГС, с одной стороны, на ранних стадиях процесса вызывает повреждение гепатоцитов преимущественно через запуск процессов апоптоза [5]. С другой стороны, ВГС инициирует иммунопатологический процесс, который опосредованно усиливает повреждение [6]. ВГС способен оказывать и прямой профиброгенный эффект, участвуя в активации звездчатых клеток [7].

Имунопатологический процесс при ХГС осуществляется преимущественно за счет Т-клеточного звена иммунитета. Причем в случае хронического

течения инфекции CD3+/CD8+-Т-клеточный ответ оказывается недостаточным для элиминации возбудителя и происходит его персистенция. По данным исследователей, непосредственное действие ВГС значимо только на начальных этапах процесса, в то время как запущенное клеточно-опосредованное иммунное повреждение обеспечивает прогрессию заболевания [3,8].

Помимо Т-лимфоцитов в данном процессе активное участие принимают макрофаги печени — клетки Купффера (КК). В условиях патологии КК осуществляют разнонаправленные эффекты: выделяют провоспалительные цитокины, активируют Т-лимфоциты, но также способны и ингибировать иммунный ответ, стимулируют фиброгенез и могут способствовать его разрешению [9].

Однако в случае сохраняющегося клеточно-опосредованного иммунного повреждения происходит постоянная и длительная стимуляция звездчатых клеток (ЗК) печени, что приводит к их активации и превращению в миофибробласты, которые начинают синтезировать прежде всего коллагены, что и реализуется впоследствии в фиброз печени. ЗК играют важную роль и в иммунопатологическом процессе, посредством стимулирования NK- и Т-клеточного иммунного ответа, а также активации КК [7].

Единой точки зрения относительно возможного различного течения ХГС, вызываемого разными генотипами, на данный момент нет. Часть исследователей не видит отчетливой зависимости неблагоприятного течения заболевания от генотипа вируса [4]. Однако некоторые исследователи предполагают, что 3-й генотип ВГС, в отличие от 1-го генотипа, ассоциируется с более быстрым развитием фиброза [10]. Помимо этого, было выявлено, что для 3 генотипа характерен наихудший ответ на терапию и, следовательно, более тяжелое течение и более высокий уровень смертности, обусловленный высоким риском развития цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы [11,12].

Имеются немногочисленные исследования, посвященные вопросам особенностей патогенеза ХГС, вызываемого разными генотипами вируса. Так, в одном из исследований, проведенных *in vitro*, было показано, что ВГС генотипа 1 инфицирует макрофаги, в отличие от генотипа 3, что обеспечивает более длительное его персистирование и, вероятно, потребует более длительной терапии [13].

Однако патогенетические механизмы таких отличий на данный момент изучены недостаточно, что и обуславливает актуальность нашего исследования.

Цель работы: охарактеризовать особенности межклеточных взаимодействий непаренхиматозных клеток печени при хроническом гепатите С, вызванном 1 и 3 генотипами вируса.

Материалы и методы

Нами исследовались 57 биоптатов печени пациентов с ХГС в возрасте от 18 до 60 лет: 28 пациентов с 1 генотипом ВГС и 29 пациентов с 3 генотипом. Фиксированные в 10%-м забуференном формалине биоптаты подвергались стандартной гистологической проводке в процессоре Excelsior AS (Thermo Shandon

Limited, Англия). После заливки в парафин изготавливались срезы ткани толщиной 3-4 мкм при помощи ротационного микротомы. Срезы окрашивались гематоксилином и эозином, а также пикрофуксином по Ван-Гизону. Аналитический этап проходил с использованием микроскопа Axio Scope A1 (Carl Zeiss, Германия). Гистологическая активность (А) и степень выраженности фиброза (F) оценивались по шкале METAVIR [14].

Иммуногистохимическое исследование осуществлялось с использованием иммунопейнера Autostainer 480S (Thermo Shandon Limited, Англия) по стандартному протоколу UltraVision Quanto. Использовались моноклональные антитела к CD8 (клон SP16, 1/100, Thermo), α -SMA (клон asm-1, 1/50, Leica), CD68 (клон KP1, 1/6000, Thermo). В сканированных при помощи цифрового сканера Panoramic Midi (3DHISTECH Kft., Венгрия) иммуногистохимических препаратах с помощью морфометрической программы QuantCenter выполнялся подсчет абсолютного количества CD8+ лимфоцитов, CD68+ макрофагов и SMA- α + ЗК внутри разных долек ткани печени с последующим пересчетом на 1 мм², а также подсчитывалась площадь (%), занимаемая CD68+ макрофагами и SMA- α + ЗК внутри разных печеночных долек.

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программы Statistica 10 for Windows. Применялся непараметрический критерий Манна—Уитни при сравнении выборок. При анализе корреляционных взаимодействий использовался коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Результаты считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Результатами иммуноморфологического и морфометрического исследований показано достоверно более высокое содержание CD8+лимфоцитов в паренхиме печени и обусловленная ими более высокая гистологическая активность в печени больных ХГС, вызванным 3-м генотипом ВГС ($p < 0,05$) (рис.1А, Б). Полученные данные также подтверждались при проведении гистологического и иммуногистохимического исследований (рис.1Г-Ж).

Выраженность цитолитического синдрома (по активности ALT в сыворотке крови) была достоверно выше у больных, инфицированных 3-м генотипом ВГС (рис.1В).

При анализе корреляционных взаимодействий (КВ) между содержанием CD8+ Т-лимфоцитов, гистологической активностью (А), стадией фиброза (F) и выраженностью цитолиза (ALT) также наблюдались различные закономерности. При 1-м генотипе выявлены КВ средней силы между содержанием CD8+лимфоцитов и стадией фиброза ($r=0,42$, $p<0,05$), а также между выраженностью цитолиза и гистологической активностью ($r = 0,5$ $p < 0,05$). При 3 генотипе — между выраженностью фиброза, гистологической активностью и цитолизом: F/ALT — $r = 0,41$, A/ALT — $r = 0,63$, $p < 0,05$, а также между содержанием CD8+лимфоцитов и гистологической активностью ($r = 0,54$, $p < 0,05$).

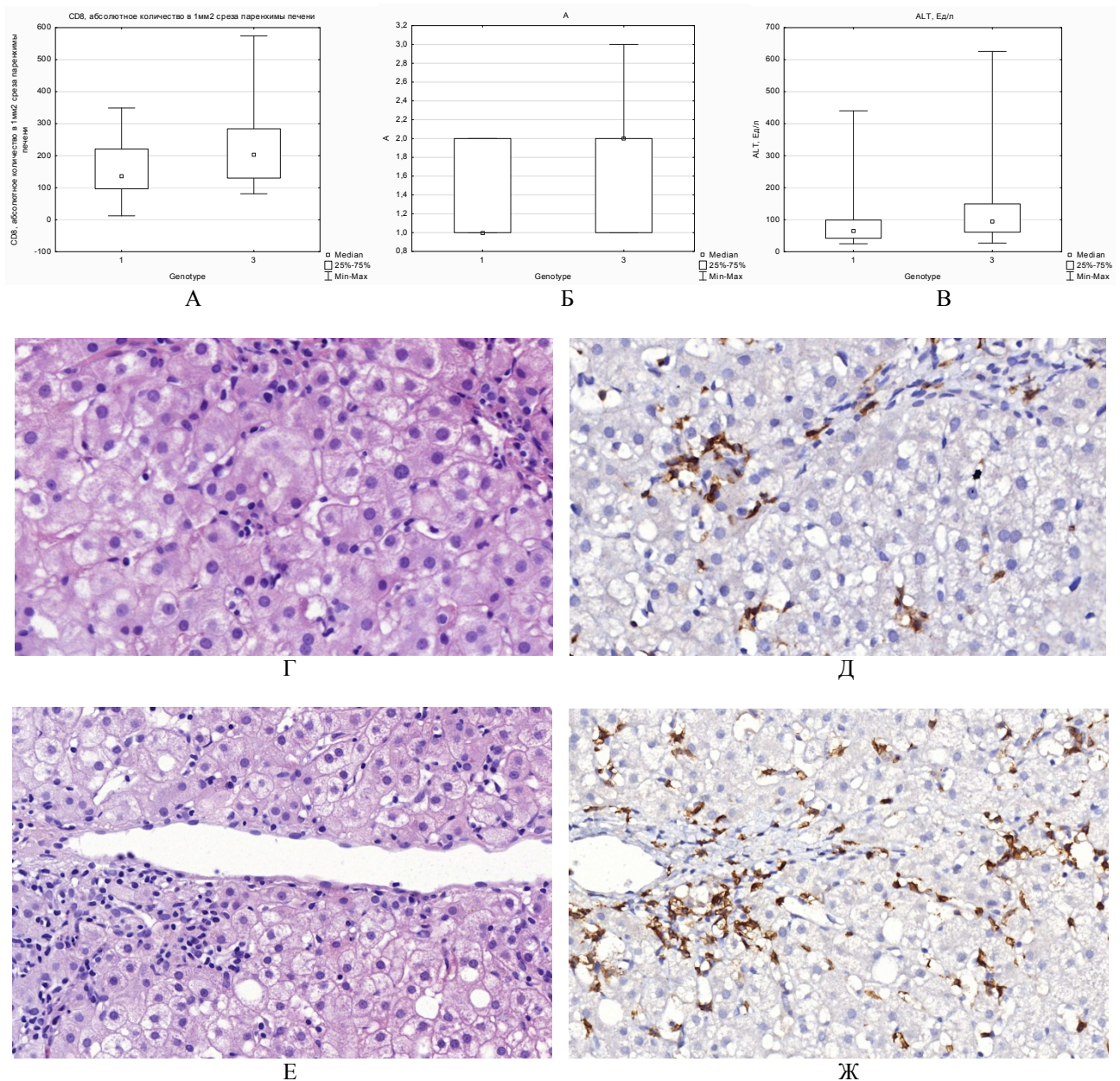


Рис.1. Различия в клинко-иммуноморфологических показателях при ХГС, вызванном 1 и 3 генотипом ВГС. А, Б, В — средние показатели содержания CD8+ Т-лимфоцитов в паренхиме печени (А), гистологической активности гепатита («А», баллы) (Б) и выраженности цитолитического синдрома (ALT, ед/л) (В) в зависимости от генотипа вируса (1 или 3 генотип), вызвавшего ХГС, $p < 0,05$. Г, Д — слабо выраженные ступенчатые некрозы и скудная инфильтрация паренхимы CD8+ лимфоцитами при низкой гистологической активности ХГС, вызванного 1 генотипом ВГС. Е, Ж — обширные ступенчатые и мостовидные некрозы, выраженная инфильтрация паренхимы CD8+ лимфоцитами при высокой гистологической активности ХГС, вызванного 3 генотипом ВГС. Г, Е — окраска гематоксилином и эозином, ув.400. Д, Ж — ИГХИ (CD8), DAB (коричневое окрашивание), ув.400

Были проанализированы КВ между абсолютным содержанием CD8+-лимфоцитов, абсолютным содержанием и площадью CD68+макрофагов и SMA+звездчатых клеток, где также были выявлены различные тенденции. Так, при генотипе 1 выявлена КВ средней силы между количеством CD8+лимфоцитов и абсолютным содержанием и площадью внутрипеченочных CD68+макрофагов ($r=0,67$ и $0,65$ соответственно, $p < 0,05$, рис.2), а также между количеством и площадью CD68+макрофагов и количеством и площадью SMA+звездчатых клеток: $CD68abs/SMAabs$ $r = 0,5$,

$CD68abs/SMA\%$ $r = 0,5$, $CD68\%/SMAabs$ $r = 0,47$, $CD68\%/SMA\%$ $r = 0,42$, $p < 0,05$.

При генотипе 3 выявлены КВ между содержанием CD8+лимфоцитов и абсолютным содержанием, площадью внутрипеченочных CD68+макрофагов, а также SMA+звездчатых клеток: $CD8/CD68abs$ $r=0,45$, $CD8/CD68\%$ $r = 0,56$, $CD8/SMAabs$ $r = 0,44$, $CD8/SMA\%$ $r = 0,44$, $p < 0,05$) (рис.3). Выявлены КВ между площадью SMA+звездчатых клеток, абсолютным содержанием и площадью внутрипеченочных CD68+макрофагов: $CD68abs/SMA\%$ $r = 0,49$, $CD68\%/SMA\%$ $r = 0,56$, $p < 0,05$.

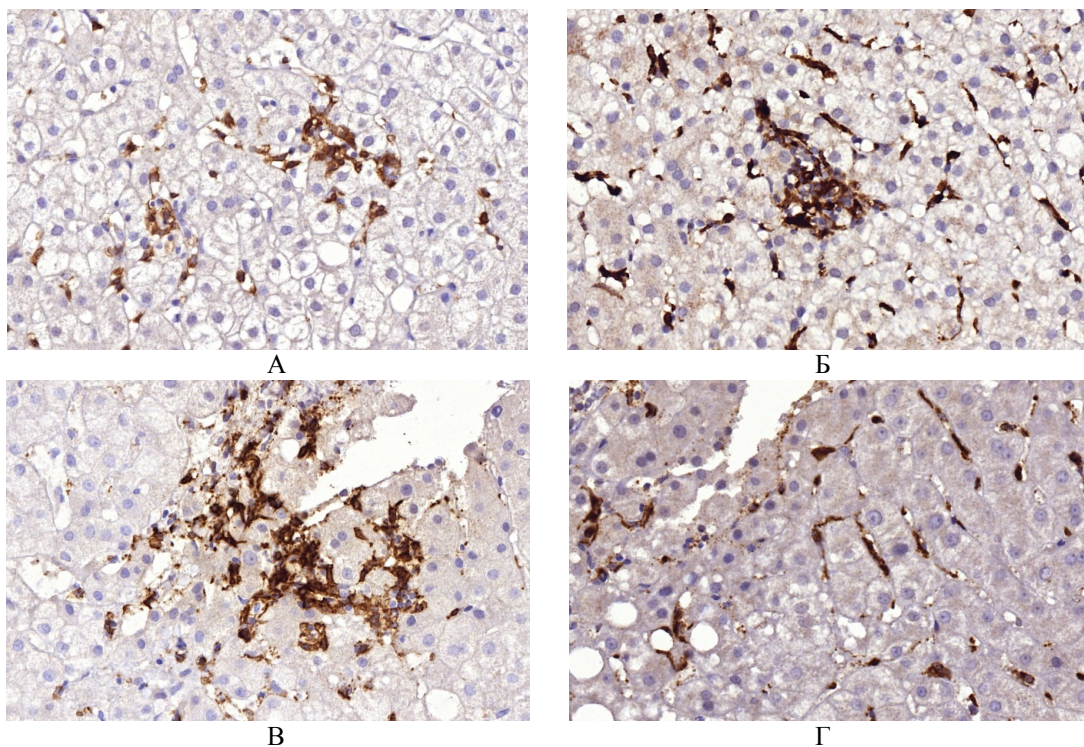


Рис.2. Содержание CD8+ Т-лимфоцитов и CD68+ макрофагов в паренхиме печени у больных с умеренной гистологической активностью ХГС, инфицированными разными генотипами вируса гепатита С. А,Б — умеренная внутридольковая инфильтрация CD8+ Т-лимфоцитами (А) и выраженная реакция CD68+ макрофагов (Б) у больного, инфицированного 1 генотипом вируса гепатита С. В,Г — выраженная внутридольковая инфильтрация CD8+ Т-лимфоцитами (В) и умеренная реакция CD68+ макрофагов (Г) у больного, инфицированного 3 генотипом вируса гепатита С. ИГХИ (А,В — CD8; Б,Г — СВ68), DAB (коричневое окрашивание), ув.400

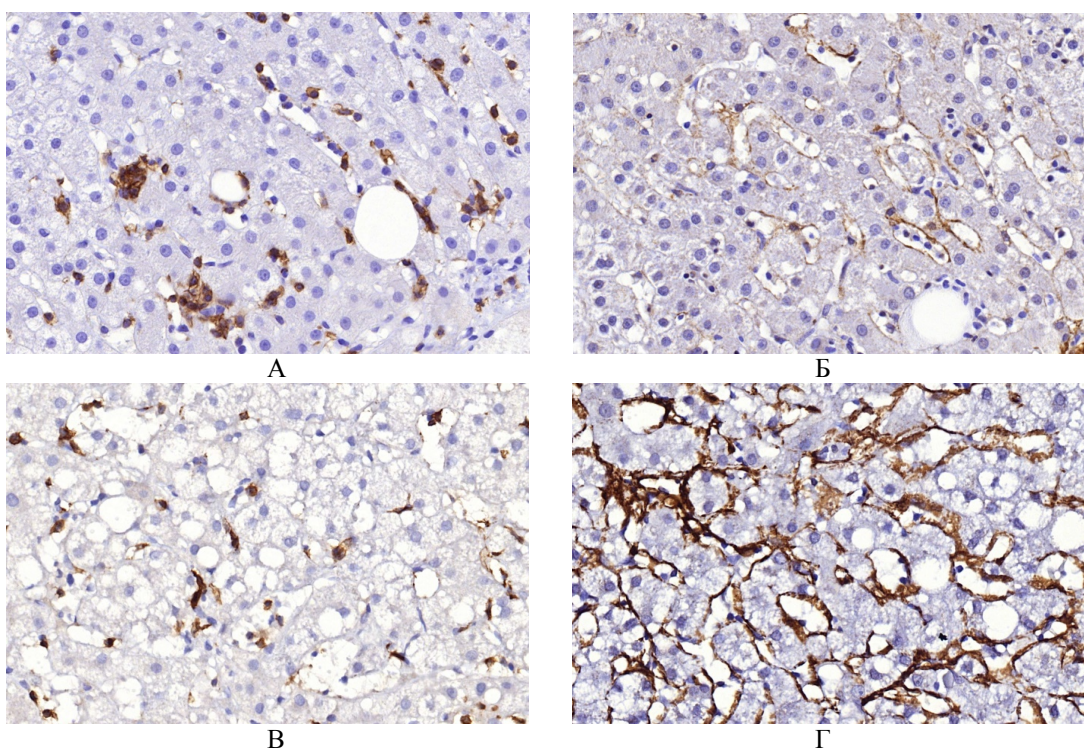


Рис.3. Содержание CD8+ Т-лимфоцитов и SMA-alfa+ ЗК в паренхиме печени у больных с умеренной гистологической активностью ХГС, инфицированными разными генотипами вируса гепатита С. А,Б — умеренная внутридольковая инфильтрация CD8+ Т-лимфоцитами (А) и слабо выраженная активация ЗК (SMA-alfa+) (Б) у больного, инфицированного 1 генотипом вируса гепатита С. В,Г — слабо выраженная внутридольковая инфильтрация CD8+ Т-лимфоцитами, выраженные некробиотические изменения гепатоцитов (В) и выраженная активация ЗК (SMA-alfa+) (Г) у больного, инфицированного 3 генотипом вируса гепатита С. ИГХИ (А,В - CD8; Б,Г — СВ68), DAB (коричневое окрашивание), ув.400

Обсуждение

Результатами нашего исследования показан более выраженный характер клеточно-опосредованного иммунного повреждения паренхимы печени в виде более высокого среднего содержания CD8+лимфоцитов в паренхиме печени и обусловленной им более высокой гистологической активностью, проявляющейся более выраженным цитолитическим синдромом у больных ХГС, вызванным 3-м генотипом вируса, в сравнении с 1-м генотипом. Активация Т-клеточного иммунного ответа, преимущественно за счет CD8+лимфоцитов, лежащая в основе клеточно-опосредованного иммунного повреждения печени, является главным фактором прогрессии фиброза. Эти особенности иммунного ответа, характерные для 3-го генотипа вируса, могут обуславливать менее благоприятное течение ХГС с более быстрым формированием фиброза.

Значение цитолитического синдрома как показателя неблагоприятного течения ХГС по мнению большинства исследователей неоднозначно. По данным многочисленных литературных источников отчетливой корреляции между уровнем гистологической активности, выраженностью цитолитического синдрома и степенью фиброза не выявляется, отмечается частое несоответствие выраженности клеточно-опосредованной иммунной реакции и степени повреждения паренхимы печени, возникающие при ХГС [3], что может быть обусловлено отсутствием учета фактора влияния генотипа в этих исследованиях. Однако некоторыми исследованиями показано, что значительное увеличение выраженности цитолитического синдрома ассоциировано с прогрессией фиброза [15]. Полученные нами данные свидетельствуют о большей выраженности цитолитического синдрома у больных, инфицированных 3-м генотипом ВГС.

Нами выявлены различия характера межклеточных взаимодействий, обусловленные разными генотипами ВГС. Нарастание клеточно-опосредованного иммунного повреждения при ХГС, вызванном 1-м генотипом вируса, приводит к активации клеток макрофагального звена и не приводит к выраженной активации ЗК, осуществляющейся опосредованно вследствие активации макрофагов. В свою очередь, для ХГС, вызванного 3-м генотипом вируса, характерны иные закономерности: нарастание клеточно-опосредованного иммунного повреждения паренхимы печени приводит к активации и клеток макрофагального звена и непосредственно ЗК.

Полученные данные также подтверждают различный патогенез фиброза при разных генотипах. Стимулирующая способность Т-лимфоцитов как на макрофаги, так и на ЗК, характерная для 3-го генотипа ВГС, приводит к более выраженной активации последних, поскольку является дополнительным активирующим сигналом вместе с сигналами от макрофагов. Выявленное нами значительное увеличение размеров ЗК, наблюдаемое при ХГС, вызванном 3-м генотипом вируса, возможно, свидетельствует о более выраженной их функциональной активации, вероятно, связанной с достижением предела возможности увеличения количества ЗК и формированием

компенсаторной гипертрофии клеток, сохраняющих обеспечение функции.

Выводы

Характер течения патологического процесса и фиброгенез в печени при ХГС, вызванном 1-м и 3-м генотипами вируса, имеет значительные отличия. Для 3-го генотипа, в отличие от 1-го генотипа вируса, характерен более выраженный характер клеточно-опосредованного иммунного повреждения паренхимы печени, проявляющегося более выраженным цитолитическим синдромом. Прогрессирование клеточно-опосредованного иммунного повреждения паренхимы печени приводит к реализации межклеточных взаимодействий непаренхиматозных клеток печени с более выраженной активацией ЗК у больных, инфицированных 3-м генотипом ВГС. Совокупность патогенетических особенностей 3-го генотипа ВГС лежит в основе неблагоприятного течения ХГС у больных, инфицированных 3-м генотипом вируса.

1. Jee M.H. et al. New Mechanism of Hepatic Fibrogenesis: Hepatitis C Virus Infection Induces Transforming Growth Factor β 1 Production through Glucose-Regulated Protein 94 // *J. Virol.* 2016. Vol.90. №6. P.3044-3055.
2. Saha B., Kodys K., Szabo G. Hepatitis C Virus-Induced Monocyte Differentiation Into Polarized M2 Macrophages Promotes Stellate Cell Activation via TGF- β // *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2016. Vol.2, №3. P.302-316.
3. Карев В.Е., Цинзерлинг В.А., Лобзин Ю.В. Сравнительная характеристика фиброгенеза в печени при хронической HBV- и HCV-инфекции // *Клиническая патофизиология.* 2015. № 3. С. 32–37.
4. Lingala S., Ghany M.G. Natural History of Hepatitis C // *Gastroenterol. Clin. North Am.* 2015. Vol.44. №4. P.717-734.
5. Лобзин Ю.В. и др. Морфологическая характеристика естественного течения хронической HCV-инфекции при различных темпах прогрессирования заболевания // *Вестник Санкт-Петербургского ун-та. Сер. 11. Медицина.* 2008. №4. С.91-102.
6. Kwon Y.-C., Ray R.B., Ray R. Hepatitis C virus infection: establishment of chronicity and liver disease progression // *EXCLI J.* 2014. Vol.13. P.977-996.
7. Wang Y. et al. Hepatic stellate cells, liver innate immunity, and hepatitis C virus // *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2013. Vol.28. №1. P.112-115.
8. Poynard T. et al. A comparison of fibrosis progression in chronic liver diseases // *J. Hepatol. Elsevier,* 2003. Vol.38. №3. P.257-265.
9. Boltjes A. et al. The role of Kupffer cells in hepatitis B and hepatitis C virus infections // *J. Hepatol.* . 2014. Vol.61. №3. P.660-671.
10. Probst A. et al. Role of Hepatitis C virus genotype 3 in liver fibrosis progression - A systematic review and meta-analysis // *J. Viral Hepat.* 2011. Vol.18. №11. P.745-759.
11. Shahnazarian V. et al. Hepatitis C virus genotype 3: Clinical features, current and emerging viral inhibitors, future challenges // *Ann. Gastroenterol.* 2018. V.31. №5. P.541-551.
12. Chan A., Patel K., Naggie S. Genotype 3 infection: the last stand of hepatitis C virus // *Drugs.* 2017. Vol.77. №2. P.131-144.
13. Revie D., Salahuddin S.Z. Role of macrophages and monocytes in hepatitis C virus infections // *World J. Gastroenterol.* 2014. Vol.20. №11. P.2777-2784.
14. Bedossa P., Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C // *Hepatology.* 1996. Vol.24. №2. P.289-293.
15. Zeremski M. et al. Fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C virus infection // *J. Infect. Dis. University Press,* 2016. Vol.214. №8. P.1164-1170.

References

1. Jee M.H. et al. New Mechanism of Hepatic Fibrogenesis: Hepatitis C Virus Infection Induces Transforming Growth Factor β 1 Production through Glucose-Regulated Protein 94. *J. Virol.*, 2015, vol.90, no.6, pp.3044–3055.
2. Saha B., Kodys K., Szabo G. Hepatitis C Virus-Induced Monocyte Differentiation Into Polarized M2 Macrophages Promotes Stellate Cell Activation via TGF- β . *Cmgh. Elsevier Inc*, 2016, vol.2, no.3, pp.302–316.
3. Karev V.E., Tsinerling V.A., Lobzin Yu.V. Sravnitel'naya kharakteristika fibrogezeza v pecheni pri khronicheskoy NVV- i NSV-infektsii [Comparative characteristics of liver fibrogenesis in chronic HBV and HCV infection]. *Clinical pathophysiology*, 2015, no.3, pp.32–37.
4. Lingala S., Ghany M.G. Natural History of Hepatitis C. *Gastroenterol. Clin. North Am. Elsevier Inc*, 2015, vol.44, no.4, pp.717–734.
5. Lobzin Yu.V. i dr. Morfologicheskaya kharakteristika estestvennogo techeniya khronicheskoy HCV-infektsii pri razlichnykh tempakh progressirovaniya zabolevaniya [Morphological characteristic of chronic HCV-infection's natural course at various rates of disease progression]. *Vestnik of Saint Petersburg University, series 11, Medicine* – 2008, no.4, p.91–92.
6. Kwon Y.-C., Ray R.B., Ray R. Hepatitis C virus infection: establishment of chronicity and liver disease progression. *EXCLI J. Leibniz Research Centre for Working Environment and Human Factors*, 2014, vol.13, p.977.
7. Wang Y. et al. Hepatic stellate cells, liver innate immunity, and hepatitis C virus. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2013, vol.28, no.1, pp.112–115.
8. Poynard T. et al. A comparison of fibrosis progression in chronic liver diseases. *J. Hepatol. Elsevier*, 2003, vol.38, no.3, pp.257–265.
9. Boltjes A. et al. The role of Kupffer cells in hepatitis B and hepatitis C virus infections. *J. Hepatol. European Association for the Study of the Liver*, 2014, vol.61, no.3, pp.660–671.
10. Probst A. et al. Role of Hepatitis C virus genotype 3 in liver fibrosis progression - A systematic review and meta-analysis. *J. Viral Hepat.* 2011, vol.18, no.11, pp.745–759.
11. Shahnazarian V. et al. Hepatitis C virus genotype 3: Clinical features, current and emerging viral inhibitors, future challenges. *Ann. Gastroenterol*, 2018, vol.31, no.5, pp.541–551.
12. Chan A., Patel K., Naggie S. Genotype 3 infection: the last stand of hepatitis C virus. *Drugs. Springer*, 2017, vol.77, no.2, pp.131–144.
13. Revie D., Salahuddin S.Z. Role of macrophages and monocytes in hepatitis C virus infections. *World J. Gastroenterol.*, 2014, vol. 20, no.11, pp.2777–2784.
14. Bedossa P., Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. *Hepatology. Wiley Online Library*, 1996, vol.24, no.2, pp.289–293.
15. Zeremski M. et al. Fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J. Infect. Dis. Oxford University Press*, 2016, vol.214, no.8, pp.1164–1170.