

МАРКЕРЫ ФИБРОЗИРОВАНИЯ ПЕЧЕНИ

Ф.Х. Иноятова, М.С. Хайитов
Ташкентская медицинская академия

Аннотация: Данная работа посвящена исследованию маркеров фиброзирования печени, которые играют ключевую роль в диагностике и оценке степени повреждения печени у пациентов с различными заболеваниями. В статье рассматриваются основные маркеры фиброза, такие как крастальный фиброзный фактор (КФФ), гиалуронан, тимпанин и другие биомаркеры, используемые для оценки фиброза печени. Также обсуждаются современные методы исследования, включая биопсию печени, эластографию и лабораторные анализы, применяемые для определения степени фиброза и прогнозирования дальнейшего течения заболевания.

Ключевые слова: Маркеры фиброзирования печени, крастальный фиброзный фактор, гиалуронан, тимпанин, биомаркеры, биопсия печени, эластография, диагностика печеночной фиброза.

Фиброз печени (ФП) — ключевое звено в развитии патологического процесса в ткани печени, и степень фиброза является достаточно чувствительным неспецифическим маркером патологических изменений в печени под воздействием различных этиологических факторов [2]. Согласно прогнозам ВОЗ в течение последующих 10-20 лет смертность от заболеваний печени возрастет в 2 раза [5, 11]. Каждый год более 50 миллионов человек заражаются вирусами гепатитов, приблизительно у 10% переболевших формируется хронический вирусный гепатит, в 20% случаях он завершается циррозом, у 5% развивается гепатоцеллюлярная карцинома. Смертельные случаи от болезней печени в Узбекистан достигли 7.936 или 4,7% от общей смертности [9]. По мнению авторов, скорректированная на возраст смертность составляет 32,38 на 100000 населения, Узбекистан занимает 27 место в мире.

В норме обмен коллагена в экстрацеллюлярном матриксе является регулируемым процессом и избыточного накопления коллагена не

происходит, вследствие его протеолиза под воздействием специфических матриксных металлопротеиназ (ММП). Апоптоз поврежденных гепатоцитов стимулирует фиброгенную активность миофибробластов печени, а накопление лимфоцитов или полиморфноядерных клеток активируют клетки Ито, синтезирующие коллаген [2, 4, 5, 7]. Индукторами этих процессов являются продукты некроза гепатоцитов; цитокины, продукты метаболизма алкоголя, перекисного окисления липидов и избыточное содержание железа в ткани печени. В связи с этим расшифровка механизмов ФП и лабораторный мониторинг фиброзирование печени при хронических гепатитах является актуальной задачей гепатологии.

Лабораторная диагностика ЦП и мониторинг пациентов осуществляются на основании Российских и европейских клинических рекомендаций: «Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации по лечению осложнений цирроза печени» [3, 11, 12]. Для верификации диагноза и дальнейшего мониторинга больных используются клинические, инструментальные, морфологические, лабораторные (общеклинические, биохимические, иммунологические, молекулярно-биологические) исследования. Стратегическими направлениями использования лабораторных тестов при ЦП являются: 1) определение функции печени; 2) определение степени гистологической активности некротически-воспалительного процесса и склероза печени. Они включают инвазивные, малоинвазивные и неинвазивные методы определения фиброза печени.

Биопсию печени называют золотым стандартом, так как кроме стадии, степени и индекса фиброза, морфологически можно оценить апоптоз, состояние желчных протоков, некрозы и дистрофии гепатоцитов, изменение синусоидов и наличие воспалительного инфильтрата [3]. Трепанобиопсия печени является золотым стандартом, позволяющим получать качественный биопсийный материал печени для дальнейшего заключения патоморфологов. Для этого разработаны стандартизированные системы градации ФП:

METAVIR, индекс гистологической активности (ИГА) по Knodell и модифицированный ИГА по Ishak, в которой используется полуколичественный гистологический индекс активности (бальная оценка разных компонентов повреждения). Степень активности хронического гепатита определяется тяжестью, выраженностью и глубиной некро-воспалительного процесса. Степени активности: A0 — активность отсутствует, A1 — минимальная активность, A2 — умеренная активность, A3 — высокая активность [3, 11]. ИГА воспалительного процесса является суммой значений каждого из трех критериев, соответствует различной степени активности воспалительного процесса в печени. В клинической практике используется популярная система оценки фиброза Metavir, в соответствии с которой портальный фиброз обозначается как F1, септальный – F2, мостовидный – F3, цирроз – F4. Однако, широкое внедрение биопсии печени в клиническую практику ограничивается в связи со значительные различия результатов в различных образцах, полученных из одного органа, высокая вариабельность результатов, нехватка квалифицированных специалистов, способных объективно описать и дать количественную оценку гистологическим признакам, инвазивный характер процедуры, опытом врача, выполняющего биопсию, частые отказы пациентов от биопсии из-за страха перед ее проведением, возможные осложнения (около 30% пациентов испытывают боль) и тяжелые (смертность до 0,17% случаев) [1].

Широкое применение нашли инструментальные методы исследования, обладающие информативностью, доступностью в амбулаторных условиях, оценивать динамику ФП, неинвазивностью, безболезненностью и отсутствием осложнений. К ним можно отнести ультразвуковую эластографию (УЗЭ) печени с помощью специализированного аппарата Fibroscan (Echosens, Франция). На сегодняшний день существуют два основных направления УЗЭ печени: статическая и динамическая (эластометрия) эластография. Принцип метода эластографии основан на определении плотности ткани, которая прямо пропорциональна стадии фиброза, и позволяет оценивать эластичность

печени. Однако его невозможно использовать во время беременности, при наличии асцита и выраженной подкожной клетчатке. Диагностическую точность эластографии повышают возраст больного менее 50 лет, индекс массы тела менее 25 кг/м², отсутствие стеатоза. Диагностическая ценность (ДЦ), чувствительность (ДЧ) и специфичность (ДС) данного метода при стадии ФП > F2 составляет 86%, 70-79% и 78-84% (AUROC 0,84-0,87), при циррозе печени – 90%, 83-87% и 81-91% (AUROC 0,92-0,95). В 2009 году в клиническую практику был внедрен ARFI (Acoustic radiation force impulse) с применением специального УЗИ-сканера Siemens Acuson (Siemens, Германия). Принцип метода основан на скорости распространения ультразвуковой волны в ткани печени. Однако, низкая чувствительность эластографии на стадиях фиброза F0-F1 диктует необходимость проведения биопсии печени или использования других тестов с целью уточнения стадии фиброза.

В последние годы широкое применение нашли малоинвазивные методы диагностики фиброза печени [6, 8, 10, 12]. Они основаны на определении биохимических показателей в сыворотке крови больных. Это связано с тем, что при ЦП нарушаются все ее функции, что влечет за собой развитие многочисленных патологических синдромов с изменением соответствующих лабораторных показателей. При циррозах повышение активности трансаминаз может быть незначительным или совсем отсутствовать, что связано с угнетением процессов биосинтеза белка в печени, в том числе и печеночных ферментов, а также сокращением числа гепатоцитов. АСТ>АЛТ при циррозе печени возрастает, так как активность АЛТ связана с пиридоксальфосфатом, содержание которого снижено при циррозе печени. Для ферментативных маркеров холестаза (ЩФ, ГГТП, 5-нуклеотидаза) при циррозе характерно незначительное или средне выраженное повышение в зависимости от степени нарушения внутрипеченочной динамики желчи в связи со склеротической и регенеративной деформацией структуры ткани печени. ГГТП рассматривается как косвенный маркер фиброза. Лучшим маркером выраженности холестаза

при хронических заболеваниях печени и циррозе выступает уровень билирубина. Основным критерием печеночно-клеточной недостаточности является концентрация в крови альбумина, синтезирующегося исключительно в печени приблизительно по 15 г ежедневно, и факторов свертывания крови. При циррозе характерно повышение в крови D-димеров и продуктов деградации фибриногена, а также тромбоцитопения.

В последние годы появились лабораторные подходы, указывающие на наличие фиброза. Среди них выделяют прямые маркеры, отражающие метаболизм внеклеточного матрикса, и непрямые, свидетельствующие о печеночной недостаточности. Прямые маркеры фиброза характеризуют метаболизм внеклеточного матрикса (фиброгенез и фибринолиз) или изменения в stellatных клетках, которые доминируют в профиброзных клетках. К прямым методам оценки фиброза печени относят гиалуроновую кислоту (НА); карбокситерминальный пептид проколлагена I типа, аминотерминальный пептид проколлагена III типа, коллаген IV и VI типы, участвующие в формировании стромы паренхиматозных органов и клеточного матрикса; матриксные металлопротеиназы (ММП) - семейство ферментов, расщепляющих белки клеточного матрикса; тканевой ингибитор ММП-1 (TIMP-I); YKL-40 и др. Уровень карбокситерминального пептида проколлагена I типа увеличивается в крови у больных на стадии ЦП (алкогольного) и не изменяется при стеатогепатите. Изменение уровня аминотерминального пептида проколлагена III типа в сыворотке крови коррелирует со стадией ФП при алкогольной болезни печени и первичном билиарном циррозе. Он также отражает выраженность некротических изменений в ткани печени и сопоставим с ИГА. Динамика изменения сывороточного уровня коллагена IV типа и его фрагментов (карбокситерминальный и аминотерминальный домены проколлагена IV типа) коррелируют со степенью ФП (коллаген IV типа более 110 мг/мл - F2, более 130 мг/мл - F3). Повышение уровня НА в сыворотке крови наблюдается при заболеваниях печени различной этиологии при наличии ФП: менее 60 мг/л

– отсутствие фиброза, 85 мг/л – выраженный фиброз (ДЧ 64,5% и ДС 91,2%), 110 мг/л – ЦП (ДЧ 79,2% и ДС 89,4%), а также коррелирует со степенью воспалительных изменений в печени. Европейское общество изучения ФП предлагает совместное определение аминотерминального пептида проколлагена III типа, коллагена IV типа и НА (алгоритм ELF) (ДС - 90%, ДЧ – 95%). Комбинация НА, коллаген IV типа и непрямого маркера ФП α_2 -МГ - диагностическая панель FibroSpect (Prometheus Inc., США), позволяет разграничивать минимальный фиброз (F0—F1) от значимого (F2—F4). Хорошо зарекомендовал себя в диагностике ФП индекс SHASTA, высчитываемый на основании уровней НА и непрямыи маркеров ФП - АСТ и альбумина. Однако прямые маркеры ФП имеют определенные ограничения: при выраженной воспалительной реакции сывороточные показатели ЭЦМ могут давать ложные результаты и их уровень может увеличиваться и при воспалительных заболеваниях другой локализации.

Могут применяться и не прямые маркеры фиброза: аминотрансферазы АЛТ и АСТ (наиболее чувствительный и специфичный индикатор гепатоцеллюлярного повреждения (воспаление и некроз гепатоцитов); соотношение уровней АСТ/АЛТ (коэффициент Де Ритиса); молекулы, синтезируемые, регулируемые или секретируемые печенью, например: а) аполипопротеин А1 (апоА1) (с повышением стадии фиброза сывороточный уровень АпоА1 снижается), б) альфа-2-макроглобулин (А2М) (повышенный А2М — маркер тяжести воспалительного процесса в печени), в) количество тромбоцитов (показатель тяжести фиброза), г) холестерин, билирубин и гаптоглобин (положительный реактант острой фазы, имеет отрицательную связь с фиброзом печени), д) гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТП) - повышение активности наблюдается при цитолизе, холестазае, интоксикации алкоголем, опухолевом росте в печени и воздействии гепатотоксичных препаратов и др.. К непрямым маркерам также относятся гаптоглобин, ферритин, факторы свертывания и др.), а также некоторые другие лабораторные показатели (тромбоциты, протромбиновый индекс).

Для повышения специфичности биохимического определения степени фиброза печени в клинической практике были предложены расчетные прогностические индексы по непрямым маркерам (Fibrotest®, FibroSpectII®, Enhanced Liver, Fibrosis score®, Hepascore®, Fibrometer®). Широко известны комбинированные панели, такие как APRI, Hepascore, FIB4, FibroIndex, Forns'score, Fibrotest. Индекс APRI (aspartate aminotransferase to platelet ratio index) – простой и доступный для использования в большинстве медицинских учреждений показатель. Многочисленные исследования показывают умеренную диагностическую точность APRI в диагностике фиброза печени. Чувствительность и специфичность в отношении значительного фиброза (F2–F4) у пациентов с хроническим гепатитом С составляет 78–88% и 63–76% соответственно. Показатели фиброза FibroTest®, APRI и NAFLD являются наиболее широко используемыми и проверенными тестами. Результаты этих тестов могут быть переведены в стандартные, наиболее часто используемые шкалы гистологических индексов - METAVIR, Knodell и Ishak.

Нами на модели цирроза печени разработана панель определения стадии фиброза печени и сопоставлена со стандартным тестом APRI. Проведенные исследования показали, что APRI индекс в динамике хронического поражения печени возрастает с $0,31 \pm 0,01$ у интактных кроликов до $0,60 \pm 0,06$ ($P < 0,01$) на 20-е сутки опыта, до $0,75 \pm 0,06$ ($P < 0,001$) - на 30-е; $0,98 \pm 0,03$ ($P < 0,001$) - на 40-е, $2,42 \pm 0,07$ ($P < 0,001$) - на 50-е и $1,95 \pm 0,10$ ($P < 0,001$) - на 60-е сутки опыта. Однако данный показатель рассчитывается на основании соотношения активности АсАТ пациентов и нормативных величин к тромбоцитам. Учитывая, что активность АсАТ и количество тромбоцитов может выражено изменяться и при других патологиях, представляло интерес использование показателей, характерных для печени.

Учитывая, что в развитии фиброза ведущая роль принадлежит активизации звездчатых клеток, а уменьшение гепатоцитов приводит к нарушению синтетической, детоксицирующей функций печени, на наш взгляд более целесообразным использовать соотношение показателей активизации

звездчатых клеток (процессов фиброзирования) к показателям печеночно-клеточной недостаточности. Мы рассчитали соотношение НА/мочевина, так как согласно нашим данным более выраженные изменения характерны для НА, уровень мочевины отражает синтетическую и обезвреживающую функцию печени. Данный показатель тоже прогрессивно возрастал до $20,42 \pm 0,98$ ($P < 0,05$); $30,31 \pm 0,87$ ($P < 0,01$); $117,44 \pm 12,01$ ($P < 0,001$); $380,83 \pm 35,15$ ($P < 0,001$) и $473,7 \pm 34,56$ ($P < 0,001$) при значении этого показателя у интактных кроликов $14,6 \pm 1,58$. Как видно из приведенных данных он более четко отражает степень фиброзирования: превышение данного индекса свыше 30,00 может указывать на начало формирования коллагеновых пучков (стадия F1), от 31 до 100,0 – стадия F2, 111-200 – стадия F3 и свыше 200 – стадия F4 (цирроз). Следует сказать, что для подтверждения данного предположения необходимы клинические исследования, что является предметом дальнейших наших исследований.

Таким образом, комбинированная модель фиброза печени приводит к развитию синдромов поражения печени (цитоллиза, мезенхимального воспаления, холестаза и печеночно-клеточной недостаточности). Наряду с этим отмечено прогрессивное увеличение компонентов межклеточного матрикса (COL-IV, PIIINP и НА по мере фиброзирования печени по Metavir. Нами для оценки степени фиброза печени предложен расчет $(COL-IV + PIIINP + НА) / (альбумин + мочевина + ПТИ)$ и упрощенная модель содержание НА/содержание мочевины в сыворотке крови.

Использованная литература

1. Базарный В.В., Бессонова Е.Н., Савельев Л.И., Климушева Н.Ф. и др. Лабораторная диагностика цирроза печени: Уч. пособие.- Екатеринбург: Изд-во УГМУ, 2018.- 42 с.
2. Иноятова Ф.Х., Хайитов М.С., Хужабеков А. Роль медиаторов воспаления в фиброзировании печени, совершенствование диагностики. // O'zbekiston milliy universiteti xabarlari.- 2023.- №3/1.- С.62-65.
3. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации по лечению осложнений цирроза печени. Под ред. В.Т. Ивашкина, М.В. Маевской, Ч.С.

Павлова, Е.А. Федосьиной, Е.Н. Бессоновой и др. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.- 2016.- №26 (4).- С.71-102.

4. Лебедева Е.И., Мяделец О.Д. Клеточно-молекулярные механизмы фиброгенеза печени. // Гепатология и гастроэнтерология.- 2019.- №2.- С.119-126.

5. Малеев В.В., Ситников И.Г., Бохонов М.С. Вопросы гепатологии. Учебное пособие.- СПб.: СпецЛит, 2016.- 367 с.

6. Павлов Ч.С., Глушенков Д.В., Ивашкин В.Т. Современные возможности эластометрии, фибро- и акти-теста в диагностике фиброза печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.- 2008.- Т.18.- №4.- С. 43-52.

7. Скуратов А.Г. и др. Роль регуляторов ремоделирования печеночной ткани MMP-9 и TIMP-1 в прогрессировании цирроза печени // Проблемы здоровья и экологии.- 2019.- №4 (62). – С.88-94.

8. Соловьева Ю.А. Неинвазивные методы диагностики фиброза печени // Вестник Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова. Серия: Медицинские науки.- 2020.- №4 (21).- С. 45-54.

9. Узбекистан Профиль здоровья, WORLD HEALTH ORGANIZATION 2017

10. Шептулина А.Ф., Широкова Е.Н., Ивашкин В.Т. Неинвазивная диагностика фиброза печени: роль сывороточных маркеров // Рос. журн. гастроэнтерол.- 2015.- №2.- С.28–40.

11. EASL Clinical Practice Guidelines for the management of patients with decompensated cirrhosis [EASL Clinical Practice Guidelines for the management of patients with decompensated cirrhosis // J Hepatol.- 2018.- Vol.10. pii: S0168-8278(18)31966-4.

12. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis [EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis //J Hepatol.- 2015.- Vol.63(1).- P.237-264.