



Пермский государственный  
медицинский университет им.  
академика Е.А. Вагнера

МЗ РФ



# НОВЫЕ МАРКЕРЫ В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ

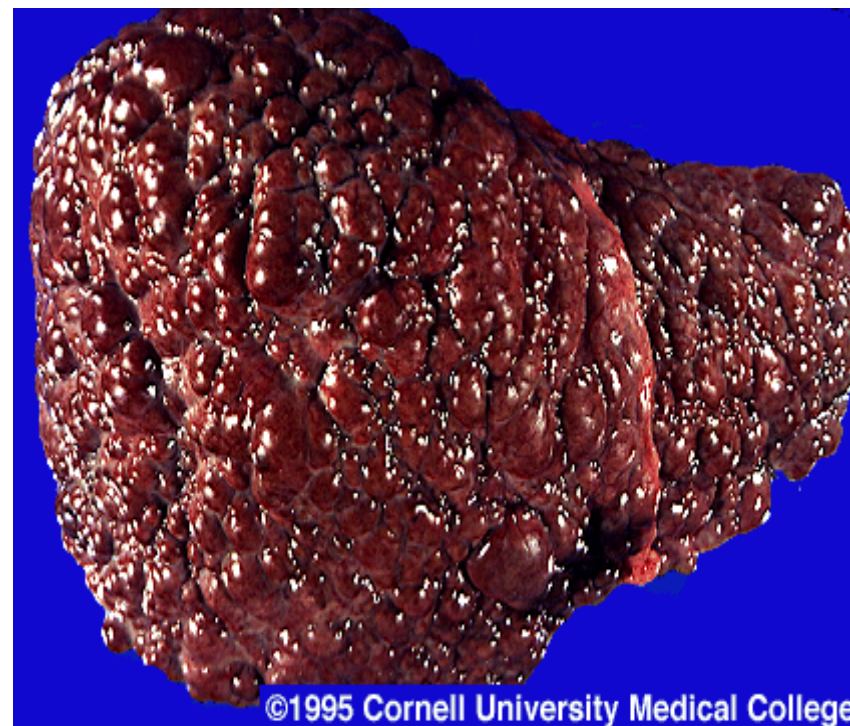
**д.м.н. доцент А.П. Щёктова, к.м.н. доцент  
И.А. Булатова**

ПЕРМЬ

1 июня 2016 г.

## Диагностика и мониторинг динамики хронических заболеваний печени – одна из самых актуальных задач современной гепатологии

- Рост болезней печени, особенно ХГС и патологии печени, связанной с ожирением.
- ЦП страдают сотни миллионов пациентов в мире. В США от ЦП умирают 30000 человек в год, 50% пациентов с ЦП умирают в течение 5 лет.
- Еще 10000 смертей обусловлены раком печени, обычно развивающимся на фоне ЦП.



# Причины фиброза и цирроза печени

- Хронические вирусные гепатиты
- Стеатогепатит
- Аутоиммунным поражением гепатоцитов или билиарного эпителия
- Паразитозы
- Врожденная патология печени
- Длительный холестаз
- Метаболические нарушения, включая болезнь Вильсона, гемохроматоз
- Саркоидоз
- Лекарственное поражение печени
- Сосудистая патология

# Фиброз печени при различной этиологии: что общего?

Если нозологическая форма может быть полиэтиологичной, она всегда имеет только один патогенез. Титов В.Н. (2009)

- **Патогнез фиброза:**
- Повреждение гепатоцитов (вирус, другие инфекции – ГЛПС, алкоголь, наркотики, МС, профессиональные вредности – нередко сочетаются),
- Нарушение метаболических функций печени,
- Эндотелиальная дисфункция,
- Оксидантный стресс,
- Воспаление,
- Фиброз,
- Цирроз,
- Генетическая предрасположенность.

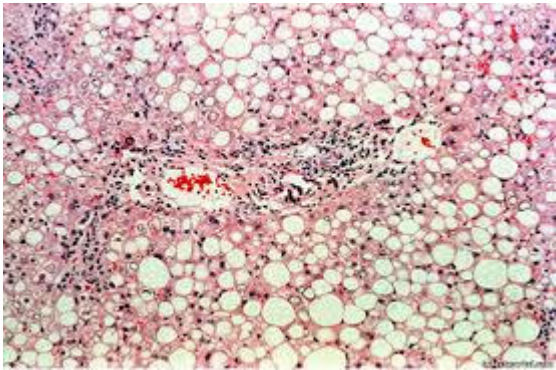
# Патогенез поражения печени



Proposed pathogenesis of NASH. The likelihood of progression to advanced NASH/cirrhosis results from a complex interplay between genetic predisposition and the mechanisms described earlier.

Ikejima K, Honda H, Yoshikawa M, Hirose M, Kitamura T, Takei Y, Sato N. Leptin augments inflammatory and profibrogenic responses in the murine liver induced by hepatotoxic chemicals. *Hepatology* 2001;34:288–297

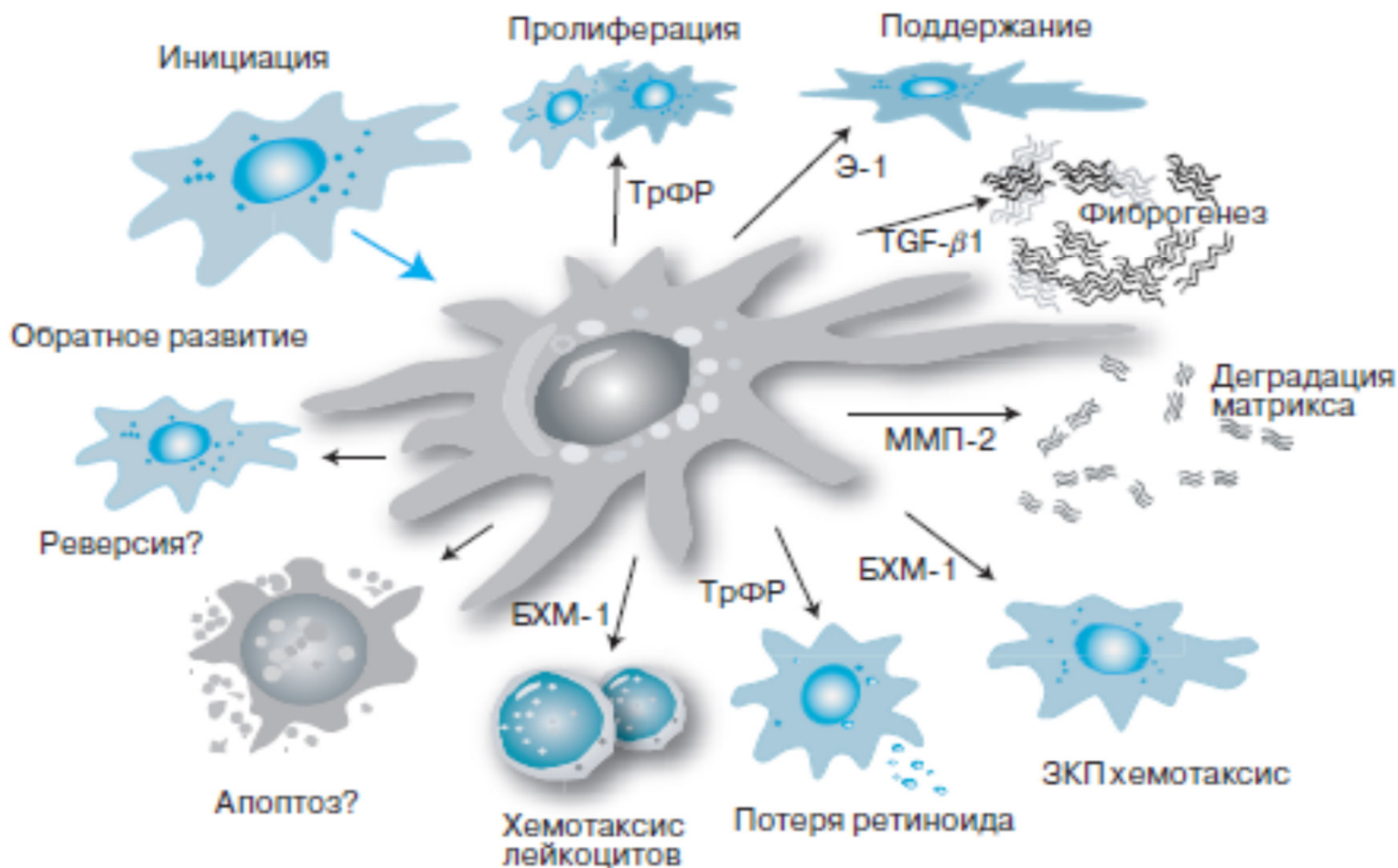




**Рисунок 1. Процессы, приводящие к фиброзу печени**



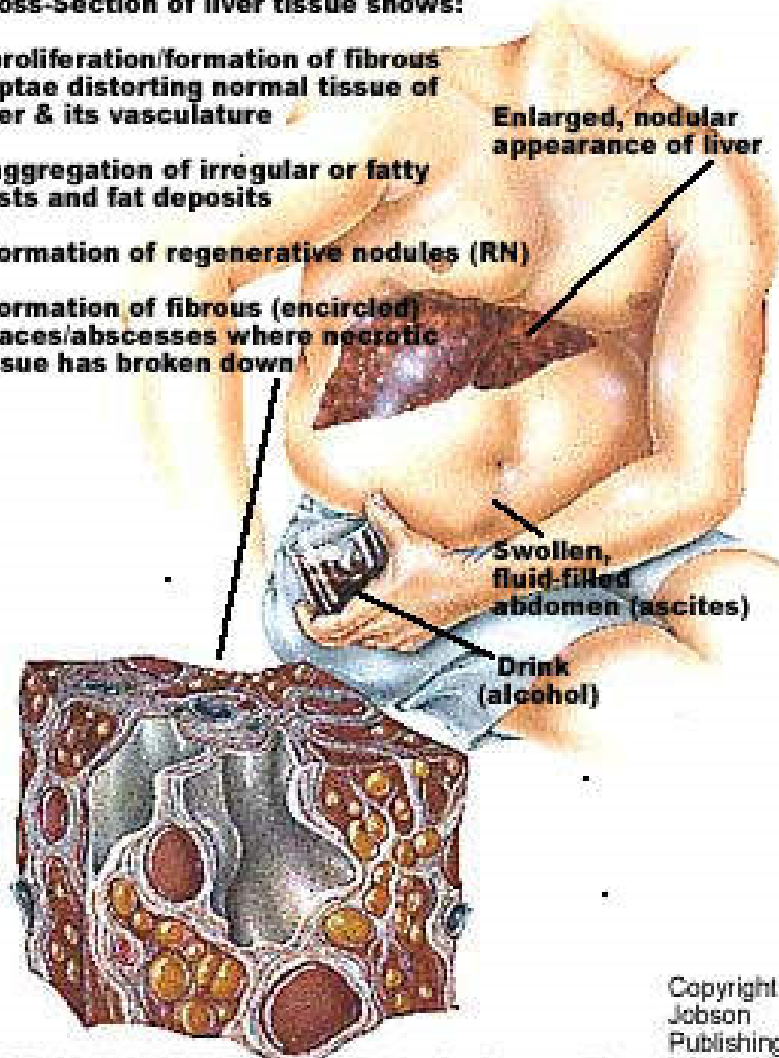
# Активация и реверсия звездчатой клетки при повреждении и восстановлении печени



# Клинические признаки не дают возможности дифференцировать степень фиброза

Cross-Section of liver tissue shows:

- proliferation/formation of fibrous septae distorting normal tissue of liver & its vasculature
- aggregation of irregular or fatty cysts and fat deposits
- formation of regenerative nodules (RN)
- formation of fibrous (encircled) spaces/abscesses where necrotic tissue has broken down



В 40% ЦП протекает субклинически



# Молекулы, имеющие значение для печеночного фиброза

- Цитокины: трансформирующий фактор роста бета, ТФР альфа, ИЛ-1, 6, 10, 13, МСР-1, фактор некроза опухоли.
- Факторы роста: ТФР бета, альфа, инсулиноподобный фактор роста (1,2), тромбоцит-происходящий фактор роста, фактор роста фибробластов, **васкулоэндотелиальный фактор роста**, ф-р роста гепатоцитов, ф-р роста соединительной ткани.
- Пептиды: **ЕТ-1**, норэпинефрин, ангиотензин-2.
- Протеазы и их ингибиторы: матрикс-металлопротеиназа-1 (кишечная коллагеназа), матрикс-металлопротеиназа-2 (желатиназа А), матрикс-металлопротеиназа-3 (стромелизин-1), матрикс-металлопротеиназа-7 (матрилизин), матрикс-металлопротеиназа-8, матрикс-металлопротеиназа-9

# Фиброз и цирроз обратимы



а-норма,  
в-воспаление,  
с-фиброз,  
d-цирроз,  
е-ремоделирование  
цирроза,  
f- «разрешение»

# Задачи выявления фиброза

- Диагностика морфологической стадии заболевания.
- Прогноз эффекта противовирусной терапии: F3 и F4 хуже отвечают на лечение, при стадии 1-2 противовирусная терапия лучше переносится.
- Оценка регресса фиброза при лечении.
- Прогнозирование скорости развития ЦП, решение возможности для антифибротической терапии.

# Традиционный метод диагностики фиброза: биопсия печени



METAVIR, индекс гистологической активности по (Knodell R.G., Ishak KG, Black WC et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*. 1981; 1(5): 431-5.;

## Недостатки:

- процедура инвазивная,
- Отказы пациентов от биопсии из-за страха перед ее проведением: боль в месте прокола и побочные эффекты анестезии (до 1/3 отказов).
- Значительные различия результатов в различных образцах, полученных из одного органа - до 40%, касающихся определения стадии фиброза (ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ДО 3-4 СТАДИЙ ФИБРОЗА);
- временные затраты, возможно
- получение неинформативных образцов (менее 15 мм – корректная оценка в 65%) – зависят от опыта врача

**Биопсия анализирует  
только 1/50 000 часть ткани печени**



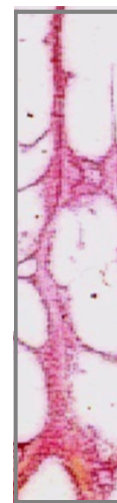
**F1**

**Минимальный  
фиброз**



**F2**

**Умеренный  
фиброз**

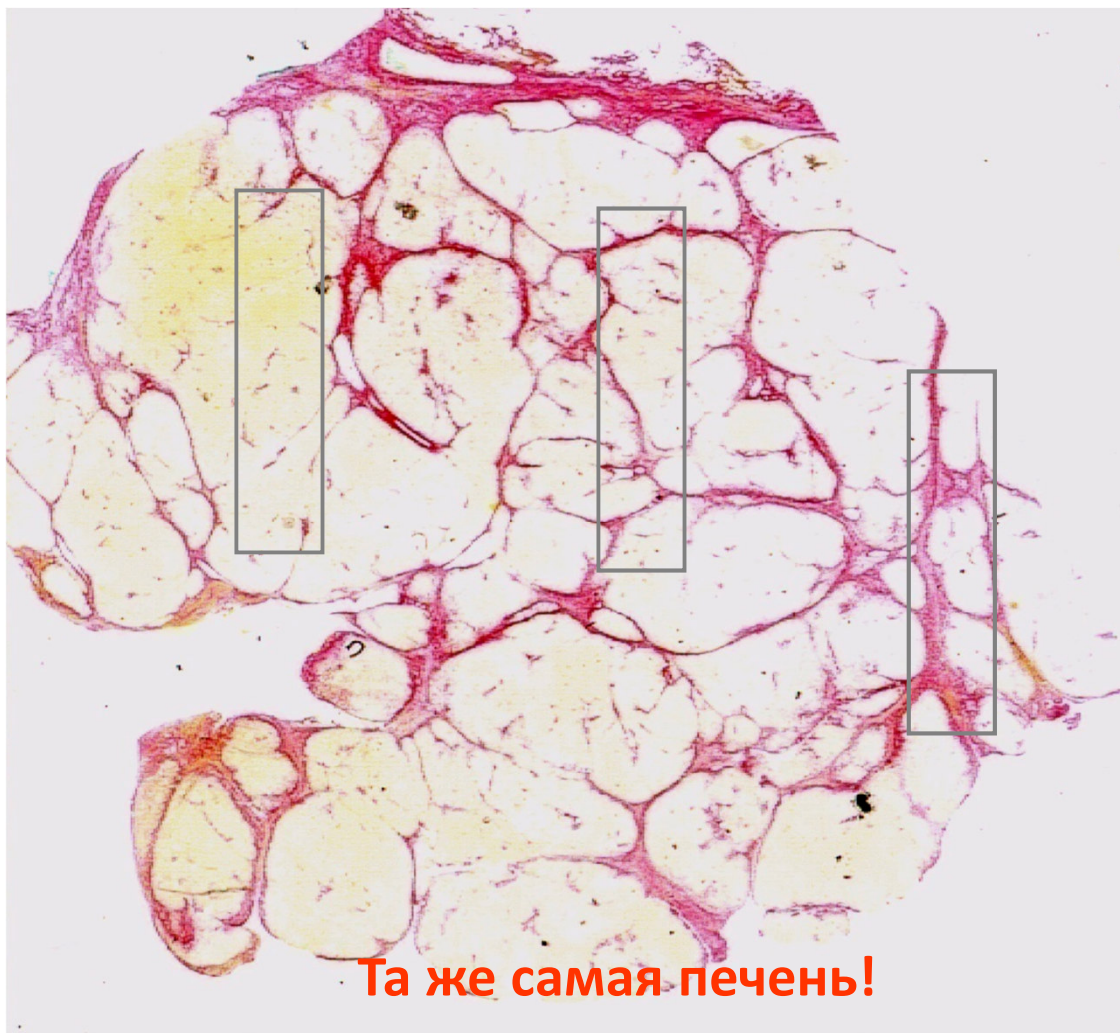


**F4**

**Цирроз**



**... ЧТО ЯВНО НЕДОСТАТОЧНО**



# Альтернативы биопсии

Неинвазивные тесты оценки фиброза:

- количественные методы оценки функции печени, с помощью
- Различных маркеров (прямых и непрямых), в том числе синтеза и деградации экстрацеллюлярного матрикса, или
- инструментальных неинвазивных методов (например - эластография).

# Маркеры выраженного фиброза печени

- **AAR** Соотношение АСТ/АЛТ более 1 предполагает наличие цирроза (Williams AL, Hoofnagle JH., 1988 ). При ВГВ и без ЦП более 1.
- **Fontana RJ et al. 2008**, ГК, TIMP-1, количество тромбоцитов
- **SHASTA**. ГК, АСТ, альбумин
- **FIBROSpect II**: А2М, ГК, TIMP-1,
- **Zeng's score**: А2М, ГГТ, ГК, возраст
- **Hepascore**: А2М, ГК. ГГТ, билирубин, возраст, пол

# Индекс АСТ/тромбоциты (APRI)

< 1.5 **АСТ/тромбоциты** > 2

Фиброз  
умеренный

Позитивная и негативная  
предиктивная оценка: 91% и 65%

Цирроз

Позитивная и негативная  
предиктивная оценка: 65% и 95%

Likewise at all. (2003)



**Prof. Thierry Poynard**

# ФиброТест

**В результате многолетних исследований, проведенных в отделении гепатологии и гастроэнтерологии клиники Питье-Сальпетриер (Париж), профессором Тьерри Пойнаром и сотр., установлена связь между сывороточными уровнями биомаркеров дисфункции печени и стадиями фиброза**



# ФиброТест

**Универсальный количественный показатель фиброза, связанного с наиболее распространенными патологиями печени:**

- **алкогольным заболеванием печени,**
- **неалкогольным жировым заболеванием печени,**
- **хроническими вирусными гепатитами В и С (и в случаях коинфекции ВИЧ-1),**

**Предсказывает быстрые и отдаленные осложнения и летальность при хроническом вирусном гепатите С**

# **ФиброМакс Тест**

**10 биомаркеров**

**4 антропометрических показателя**

**5 алгоритмов обработки результатов:**

**Fibro**

**Acti**

**Steato**

**NASH**

**ASH**

Стоимость – 200-250 евро

# Фибромакс



<http://www.biopredictive.com/>

## FibroMax

Ф.И.О. : Щекотова Алевтина Павловна

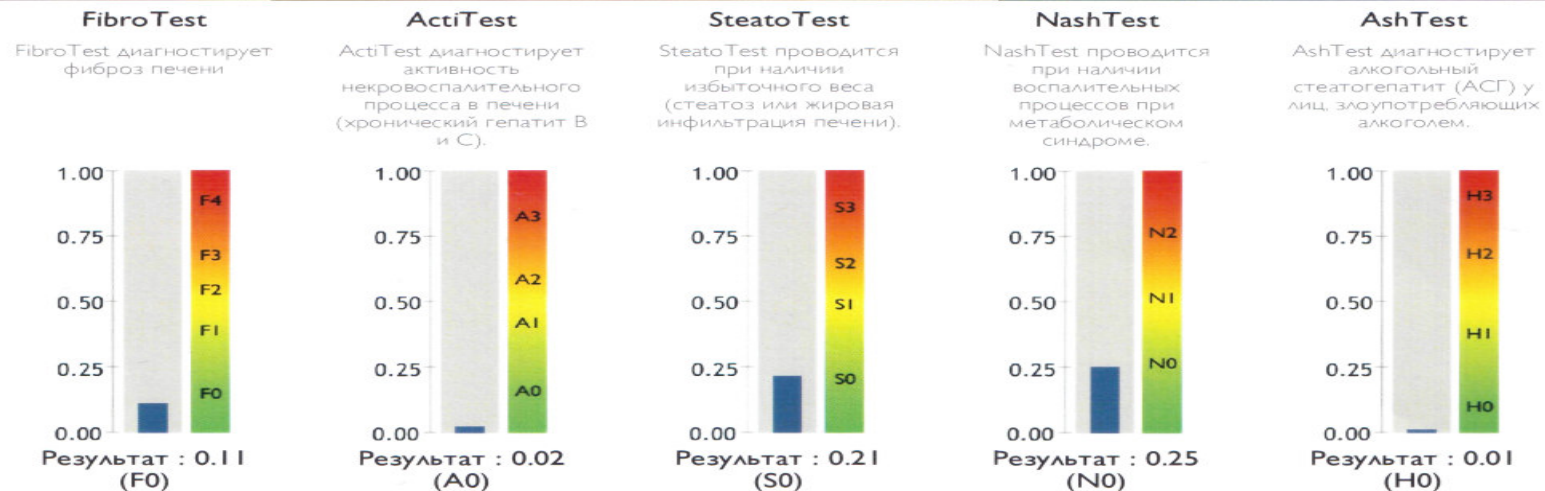
#54



Пациент	
Дата рождения	1956-02-18
Пол	Ж
Возраст	55
Вес	65 kg
Рост	1.68 m
ИМТ	23.0 kg/m <sup>2</sup>

Биомаркеры	
Дата сдачи анализов	2011-11-09
Альфа2 Макроглобулин	1.71 g/l
Гаптоглобин	1.47 g/l
Аполипопротеин А1	1.74 g/l
Билирубин	10.00 µmol/l
Гамма ГТ	24 IU/l
АЛТ	11 IU/l
АСТ	16 IU/l
Уровень глюкозы натощак	5.40 mmol/l
Общий холестерин	6.71 mmol/l
Триглицериды	1.00 mmol/l

### Результаты тестов



## Предосторожности по использованию и интерпретации тестов

---

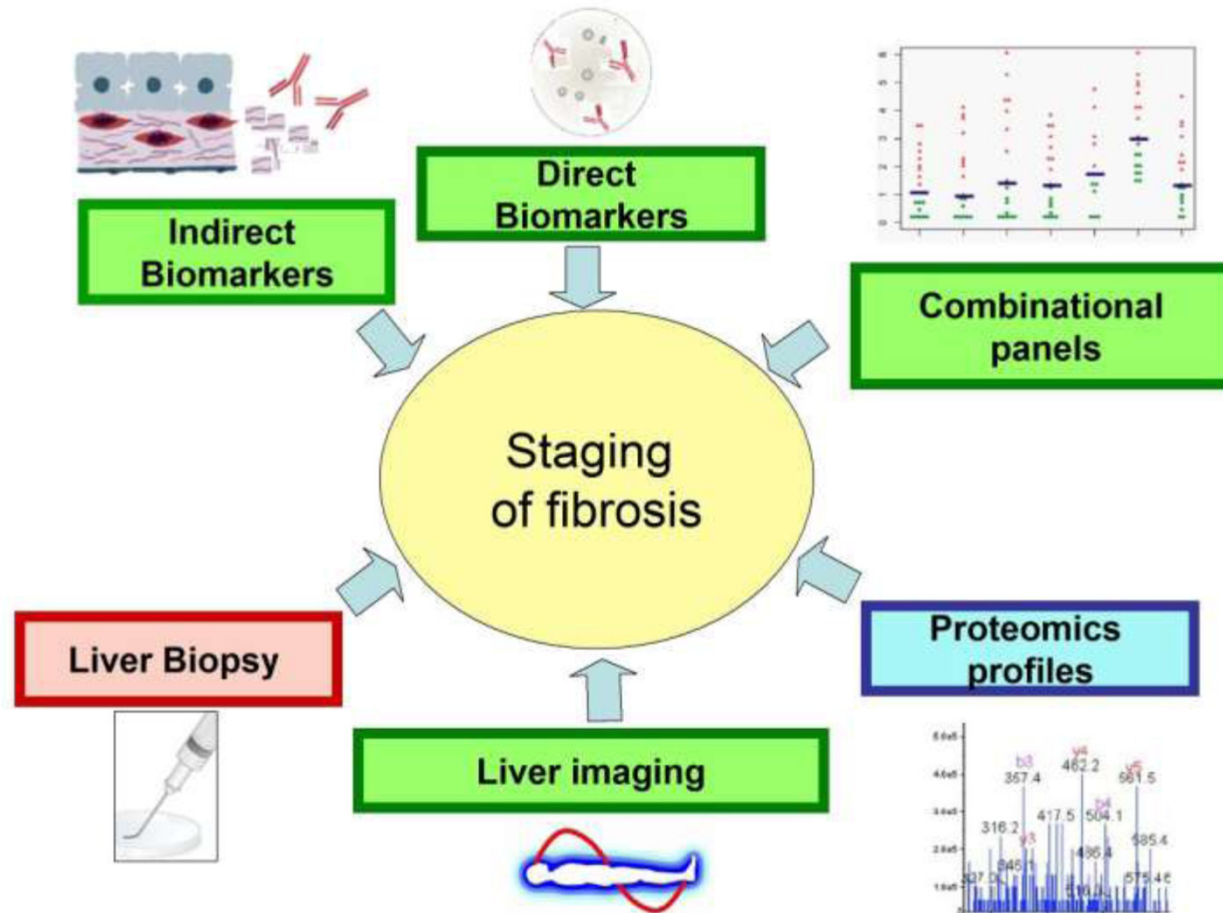
- Соблюдение рекомендуемых компанией BioPredictive условий до и во время проведения анализов является основой получения достоверных результатов.
- Тесты не применяются при остром гемолизе, остром гепатите, острых воспалительных заболеваниях, внепеченочном холестазе.
- Посоветуйтесь со специалистом при интерпретации теста в случае хронического гемолиза или синдрома Жильбера.
- Интерпретируемость тестов не была апробирована для пациентов с трансплантированной печенью.
- Будьте внимательны при интерпретации результатов в случае выхода за нормальные значения какого-либо из показателей.
- При расхождении результатов биопсии и теста посоветуйтесь со специалистом. Причиной могут быть невозможность интерпретации теста или ошибочные результаты биопсии: например, ошибка биопсии в определении стадии фиброза отмечается в 33% случаев.
- FibroTest проводится при хронических гепатитах В и С, алкогольном и неалкогольном стеатозе.
- ActiTest проводится при хронических гепатитах В и С.
- SteatoTest проводится при хронических гепатитах В и С, алкогольном и неалкогольном стеатозе.
- NashTest проводится при неалкогольном стеатогепатите.
- AshTest проводится при алкогольном стеатогепатите.

## Результаты сравнения панелей Fibrotest, Fibrometer, Hepascore (2009) для дифференциации стадий фиброза (2, 3, 4)

- Чувствительность панелей – 70-81%
- Специфичность – 60-87%.
- При промежуточных стадиях фиброза эффективность неинвазивных маркеров не очень высока, но применение этих тестов позволяет с высокой вероятностью исключить цирроз, существенно уменьшив необходимость в биопсии.  
(Вельков В.В., 2009).
- Стоимость теста Фибромакс – 200-250 евро.



# Современная интегральная диагностика фиброза печени

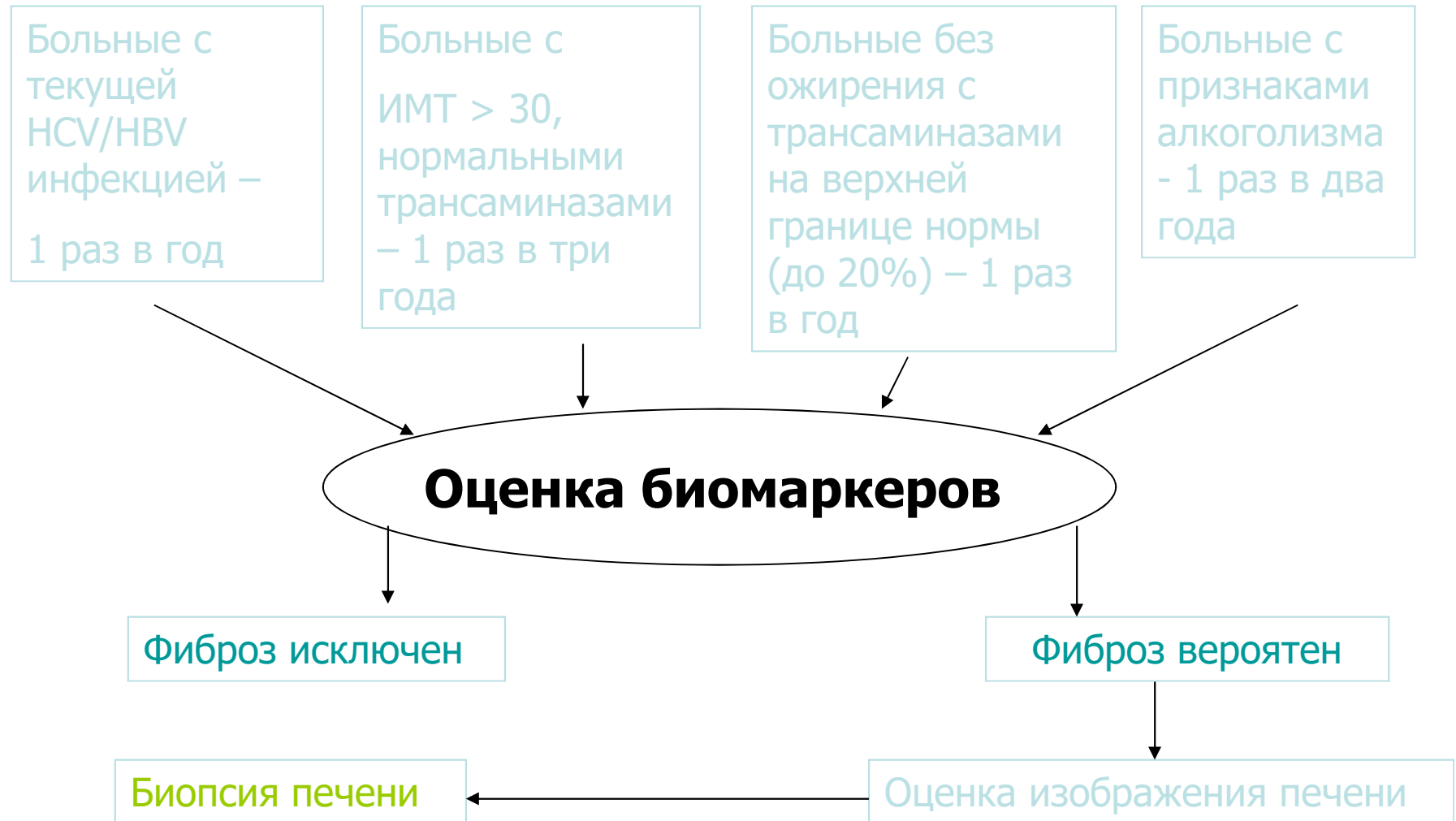


Методы визуализации:  
эластография, магнитный  
резонанс

Baranova A, Lal P,  
Birerdinc A, Younossi  
ZM. Non-invasive  
markers for hepatic  
fibrosis  
BMC Gastroenterol.  
2011;11:91.

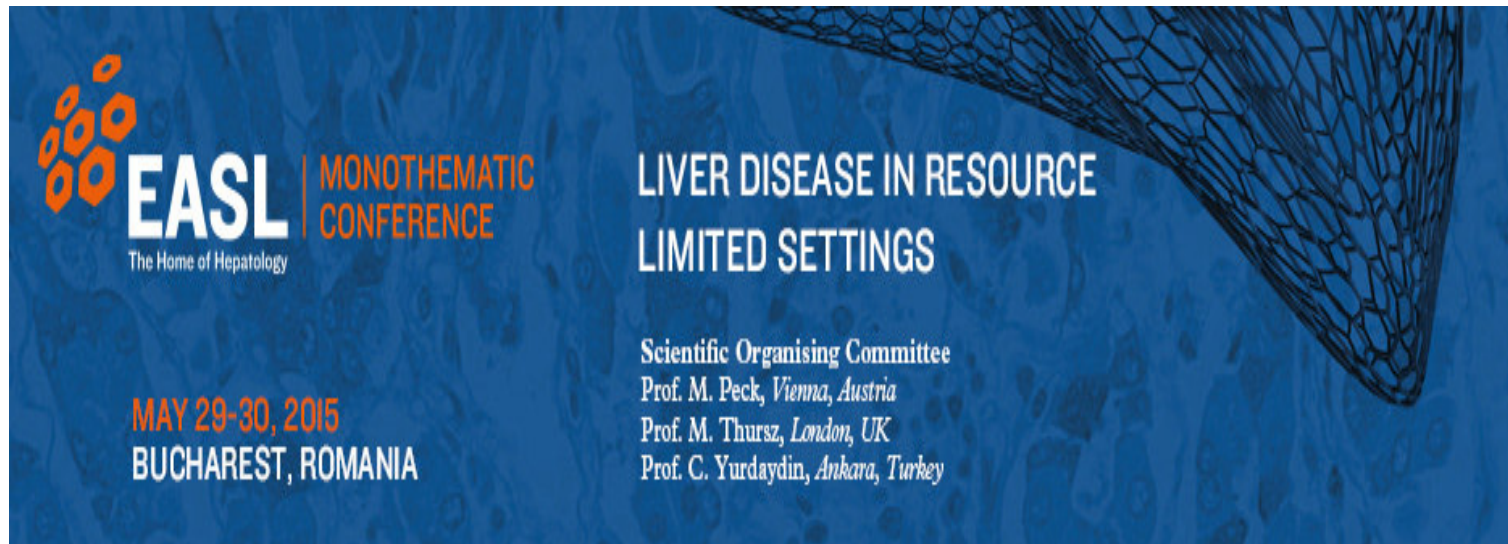
До 70% пациентов с ХГС  
избавлены  
от биопсии печени.  
F0-F1 диагностируют  
молекулярными  
методами. Больные с  
пограничными уровнями  
ФП подвергаются  
методам визуализации  
(эластография). Если эти  
Методы выявляют  
высокие степени ФП –  
рекомендуется биопсия

# Алгоритмы интегральной диагностики выраженности фиброза печени: биомаркеры -> имаджинг -> биопсия



Baranova A, Lal P, Birerdinc A, Younossi ZM. Non-invasive markers for hepatic fibrosis BMC Gastroenterol. 2011;11:91.

# Диагностика заболеваний печени в условиях ограниченных ресурсов



Идеальный метод измерения фиброза в печени должен быть простым, неинвазивным, воспроизводимым, точным, выгодным.

# MI IK / G01N33/48

## Способ диагностики стадии фиброза печени у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С

- В цельной крови, забранной с антикоагулянтом ЭДТА определяют **количество тромбоцитов** на автоматическом гематологическом анализаторе Medonic M20 (BOULE MEDICAL AB, Швеция).
- В сыворотке крови методом иммуноферментного анализа на аппарате Stat Fax 2100 (Awareness Technology, США) исследуют концентрацию **фактора некроза опухоли альфа** (ФНО- $\alpha$ ) с использованием набора «альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ» (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск).
- На автоматическом биохимическом анализаторе Architect c4000 (Abbott Laboratories, США) исследуют сывороточный уровень **альбумина** фотометрическим методом с использованием набора «Альбумин-Ново» (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск).
- Полученные значения используют для расчета индекса фиброза печени с помощью специальной формулы:

$$ИФ = 3,79 - 0,0056 * TP + 0,0855 * ФНО-\alpha - 0,0352 * АЛЬБУМИН$$

Стоимость методики: 400 руб.

Авторы: Щёктова А.П., Булатова И.А., Щёкотов В.В., Шелудько В.С.  
(2015 г.)

- Коэффициент корреляции между количеством тромбоцитов и степенью фиброза по шкале METAVIR по данным эластографии печени составил - 0,9;
- между ФНО-α и степенью фиброза - 0,89,
- между уровнем альбумина и степенью фиброза – 0,9.
- Диагностическая чувствительность предлагаемого способа определения стадии фиброза печени у пациентов с ХГС составила **93,3%**,
- диагностическая специфичность – **88%**,
- при показателе воспроизводимости – 87,5% и соответствия – 81,4%.

## Сравнительный анализ количества тромбоцитов, сывороточных концентраций ФНО-α и альбумина у больных ХГС

Стадия фиброза (F) по шкале METAVIR по данным эластографии	Тромбоциты, *10 <sup>9</sup> /л	Альбумин, г/л	ФНО-α, пг/мл
F0	325,2±28,8	49,1±1,14	1,04±0,56
F1 - 2	261,2±36,2 p<0,001	47,01±2,16 p<0,001	2,04±0,8 p<0,001
F3 - 4	155,3±25,6 p<0,001	37,5±3,03 p<0,001	7,8±3,42 p<0,001

# Индекс фиброза

- Константа и коэффициенты для формулы расчета индекса фиброза были рассчитаны с помощью метода множественной регрессии.
- В качестве зависимой переменной был использован показатель плотности печени по данным эластографии печени (ECHOSENS, Франция).
- Значение индекса фиброза в интервале от 0 до 0,5 свидетельствует об отсутствии фиброза (стадия F0),
- значение индекса фиброза в интервале от 0,6 до 2,5 соответствует умеренной стадии фиброза (F1-2),
- значение индекса фиброза более 2,5 соответствует выраженной стадии фиброза (F3-4).



# Клинический пример

- Больная Ш. 27 лет.
- В течение 7 лет наблюдается у инфекциониста по поводу хронического гепатита С, 1 генотип, вирусная нагрузка высокая  $8,3 \cdot 10^6$  копий/мл.
- На момент осмотра - жалобы на снижение работоспособности. Кожа и склеры физиологической окраски, печень у края реберной дуги, селезенка не пальпируется, живот мягкий, безболезненный.
- Количество тромбоцитов в крови  $250 \cdot 10^9$ /л, концентрация ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови 2,9 пг/мл, сывороточный уровень альбумина – 48 г/л.
- Расчет индекса фиброза:  $ИФ = 3,79 - 0,0056 \cdot 250 + 0,0855 \cdot 2,9 - 0,0352 \cdot 48 = 0,95$ , позволяет диагностировать умеренный фиброз печени (F1-2).
- Данные плотности печени по результатам эластографии: 7,8 кПа (соответствуют стадии F2).

- Таким образом, предложенный пермскими исследователями отечественный тест на фиброз практически не уступает зарубежным аналогам по операционным характеристикам стратификации стадий фиброза печени и может использоваться с учетом его доступности и дешевизны не только для диагностики, но и мониторинга фиброза печени.

**Благодарю за внимание!**



Северный Урал