

ЛАБОРАТОРНЫЕ МАРКЕРЫ ФИБРОЗА ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ И ПЕРВИЧНОМ БИЛИАРНОМ ЦИРРОЗЕ

Щёктова А.П.¹, Невзорова М.С.¹, Щёктова И.В.¹, Булатова И.А.¹, Соснин Д.Ю.¹,
Высотин С.А.¹

¹ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера Минздрава России», Пермь, e-mail: rector@psma.ru

Цель исследования: изучить значимость доступных лабораторных маркеров фиброза печени в сравнении с прямым тестом фиброза – гиалуроновой кислотой (ГК) у лиц с алкогольной болезнью печени (АБП) и больных первичным билиарным циррозом (ПБЦ). Был обследован 221 человек. Первую группу составил 101 пациент с АБП, вторую группу составили 28 больных с ПБЦ. Группа контроля состояла из 92 практически здоровых лиц. У лиц, страдающих алкогольной зависимостью, в 26% случаях было отмечено повышение АЛТ и в 34% - повышение АСТ. Индекс APRI у пациентов с АБП достоверно превышал значение в группе контроля: 0,48 [0,27; 0,86] и 0,18 [0,16; 0,23] соответственно, а при ПБЦ был достоверно выше по сравнению с АБП и составил 0,61 [0,41; 1,48]. Медиана концентрации ГК у больных АБП в 2,4 раза превышала показатель в группе контроля, при ПБЦ уровень ГК в 5 раз выше, чем у практически здоровых лиц, и в 3 раза выше, чем в группе АБП. При ПБЦ выявлены значимые взаимосвязи между непрямыми маркерами ФП: APRI и соотношением АСТ/АЛТ ($p=0,0065$). Прямой маркер фиброза – ГК в группе ПБЦ демонстрирует достоверные корреляции с APRI ($r=0,63$). ГК не имеет корреляций с непрямыми маркерами фиброза у лиц с АБП. Прямой маркер фиброза – ГК при АБП адекватно отражает выраженность развития соединительной ткани в печени. У пациентов с ПБЦ непрямыми доступными тестами фиброза – соотношением АСТ/АЛТ и APRI могут применяться в широкой клинической практике, но наиболее чувствительным тестом является прямой маркер фиброза печени – ГК.

Ключевые слова: алкогольная болезнь печени, первичный билиарный цирроз, фиброз печени, гиалуроновая кислота, индекс APRI.

LABORATORY MARKERS OF FIBROSIS IN ALCOHOLIC LIVER DISEASE AND PRIMARI BILIARY CIRRHOSIS

Shchekotova A.P.¹, Nevzorova M.S.¹, Shchekotova I.V.¹, Bulatova I.A.¹, Sosnin D.Yu.,
Vysotin S.A.¹

¹E.A. Wagner Perm State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russia, Perm, Russia

The aim: to study the importance of available laboratory markers of fibrosis of a liver in comparison with the direct test of fibrosis – hyaluronic acid (HA) at persons with alcoholic liver disease (ALD) and patients with primary biliary cirrhosis (PBC). 221 persons are examined. The first group was 101 patients with ALD, the second group was 28 patients with PBC. The group of control consisted of 92 almost healthy faces. In persons with alcohol dependence, in 26% of cases there was an increase in ALT and in 34% - an increase in AST. The APRI index at patients with ALD exceeded value in group of monitoring: 0.48 [0.27; 0.86] and 0.18 [0.16; 0.23] respectively ($p < 0.001$). The APRI index at PBC was significantly higher than the ALD and made 0.61 [0.41; 1.48]. Median concentration of HA in ALD patients is 2.4 times higher compared to the control group. In PBC patients the HA level is 5 times higher than in the control group and 3 times higher than in the ALD group. In the PBC group significant interrelations between indirect markers of HA are revealed: APRI and AST/ALT ($p = 0.0065$). A direct marker of a fibrosis – HA in the PBC group shows reliable correlations with APRI ($r=0.63$, $p=0.0003$) and AST ($r=0.48$, $p = 0.0096$). In the group of patients with ALD correlations between the HA indirect test – the APRI index and activity of ALT is revealed ($p = 0.0015$). A direct marker of HA – HA has no correlations with indirect markers of a fibrosis at persons with ALD. Thus, at persons with damage of a liver at an alcohol addiction for assessment of expressiveness of fibrosis indirect tests of AST/ALT ratio and APRI are not informative. The direct marker of fibrosis - HA with ALD adequately reflects the expression of connective tissue development in the liver. Patients with PBC have indirect available tests of a fibrosis – AST/ALT and APRI can be applied in broad clinical practice, but the most sensing test is the direct marker of a fibrosis of a liver – HA.

Keywords: alcoholic liver disease, primary biliary cirrhosis, liver fibrosis, hyaluronic acid, APRI index.

Хронические диффузные заболевания печени вызывают воспаление и прогрессирующее развитие фиброза, со временем приводящее к циррозу. Патологический процесс запускают различные причины, прогрессирующее поражение печени зависит от нарастающего отложения грубой соединительной ткани в межклеточном матриксе [1]. Основным структурным компонентом соединительной ткани является гиалуроновая кислота (ГК) [2]. Этот высокомолекулярный полисахарид, с неразветвленной основной цепью, состоящей из чередующихся последовательностей β -(1-4)-глюкуроновой кислоты и β -(1-3)-N-ацетилглюкозаминовых компонентов, относящийся к высокомолекулярным гликозаминогликанам, содержится практически в каждой ткани организма и синтезируется в клетках синовиальной оболочки и звездчатых клетках печени синтазой гиалуроновой кислоты [3].

В печени гиалуронат расщепляется в синусоидальных эндотелиальных клетках [4]. Уровень ГК в сыворотке крови зависит от состояния печени и определяется степенью повреждения эндотелия печеночных синусоидов и гепатоцитов, скоростью и степенью трансформации звездчатых клеток в миофибробласты, процессом, который индуцируется воспалением [1]. Благодаря короткому периоду полувыведения из крови (2-5 мин) сывороточный уровень ГК может оперативно отражать интенсивность и распространенность процесса фиброза органа и в конечном итоге отражать стадию фиброза печени (ФП). Уровень ГК коррелирует с гистологическими стадиями ФП по шкале METAVIR при хронических заболеваниях печени и демонстрирует высокую диагностическую точность при неинвазивной оценке фиброза и цирроза печени (ЦП) [4; 5]. Помимо ГК – прямого маркера ФП, используют большое количество непрямых маркеров, отражающих функциональное состояние печени: ферменты, билирубин, воспалительные тесты, в том числе цитокины. Предложено много комплексных панелей лабораторных тестов, характеризующих стадии ФП и коррелирующих с гистологическими шкалами [6].

В частности, при хронических диффузных заболеваниях печени традиционно применяется соотношение АСТ/АЛТ, значение которого выше 1,0 характерно для развития ЦП [5]. Индекс APRI (соотношение АСТ/тромбоциты) выше 0,65 характерен для цирроза печени (ЦП) и имеет позитивное предсказательное значение 76% и негативное предсказательное значение 86%. В этом контексте использование более низкого порогового значения APRI, равного 0,3 или менее, увеличит специфичность до 92,5%, но уменьшит чувствительность до 34% для пациентов со стадией фиброза F1 / F2 по шкале METAVIR [7]. В современных условиях используются более эффективные лабораторные маркеры ФП, такие как ГК, либо панели непрямых тестов, диагностическое значение которых выверено с

помощью «золотого стандарта» исследования фиброза – биопсии печени или эластометрии, позволяет избежать биопсии печени у значительной части пациентов с АБП [8].

У лиц, страдающих алкоголизмом, закономерно развивается хроническое поражение печени в виде алкогольной болезни печени (АБП) через стадии стеатоза, стеатогепатита и прогрессирующей до цирроза за счет активного фиброзирования в печени. До 90% у лиц, злоупотребляющих алкоголем, при биопсии определяется стеатоз. У 10-35% лиц, допускающих алкогольные эксцессы (более 100 г/день), поражение печени прогрессирует и развивается АСГ в результате паренхиматозного воспаления и гепатоцеллюлярного повреждения, что является предпосылкой для развития фиброза. При данной патологии имеется высокий риск развития гепатоцеллюлярной карциномы на фоне алкогольного цирроза печени [9]. В развитых странах мира АБП выходит на первое место среди хронических заболеваний печени. В мире, по данным ВОЗ, 6% смертей от неинфекционных заболеваний связано с употреблением алкоголя, при этом смертность мужчин почти в 2 раза выше, чем женщин. Смертность от алкоголизма в Европе составляет 11,0% для мужчин и 1,8% для женщин соответственно. При этом потребление алкоголя в мире 6,2 л чистого этанола в год, в Европе – 10,9 л/год. Наиболее важным для оценки стадии и прогноза при АБП является выраженность фиброза: риск летального исхода в течение 5 лет при минимальном фиброзе составляет 13%, при выраженном – 43% [9]. Первичный билиарный цирроз (ПБЦ) значительно более редкая патология, тем не менее, являясь аутоиммунным заболеванием с активным воспалением внутрипеченочных желчных путей, характеризуется быстрым развитием фиброза/цирроза печени, резко снижает качество и продолжительность жизни [10]. Диагностика и мониторинг ФП при различных видах патологии печени, особенно в парадигме персонализированной медицины, является актуальной задачей гепатологии. Европейская ассоциация по изучению печени призывает к дальнейшему поиску информативных скрининговых лабораторных тестов для диагностики патологии печени, в том числе ФП [11].

Цель исследования: изучить значимость доступных лабораторных маркеров фиброза печени в сравнении с прямым тестом фиброза – ГК у лиц с алкогольным поражением печени и больных ПБЦ.

Материал и методы исследования

В исследование вошли 129 пациентов. Первую группу составил 101 больной с синдромом зависимости от алкоголя и наличием АБП, лечение проводилось на базе ГБУЗ ПК «Пермский краевой клинический наркологический диспансер», средний возраст составил 44,5 [37; 53], пациенты с алкогольным циррозом печени (ЦП) из исследования исключены. Вторую группу составили 28 больных ПБЦ, обследованных на базе Пермской краевой

клинической больницы, средний возраст – 50,5 [43;54]. Группа контроля состояла из 92 практически здоровых лиц, средний возраст в группе был 42 [36; 45]. Пациенты контрольной группы обследованы на базе ЧУЗ ОКБ на ст. Пермь 2. Давность выявления поражения печени в среднем в группах больных составляла 6 лет.

Работа выполнена с соблюдением этических принципов проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов, изложенных в Хельсинкской декларации Всемирной организации здравоохранения (1994). На проведение исследования получено разрешение этического комитета ФГБОУ ВО «ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера», все обследованные подписали информированное согласие на обследование. В комплексное обследование входило анкетирование пациентов для оценки приверженности к алкоголю (опросники CAGE, AUDIT) [9], биохимические тесты (трансаминазы и др.) на автоматическом биохимическом анализаторе Mindrey (China), общий анализ крови на гепатологическом анализаторе Mindrey (China), УЗИ органов брюшной полости. У больных ПБЦ диагноз подтвержден гистологическим исследованием и обнаружением антител к микросомам. Определение концентрации ГК осуществляли методом ИФА с использованием набора реактивов производителя «BCM Diagnostics» (USA) на фотометре StatFax (USA).

Статистическая обработка результатов проводилась при помощи программы STATISTICA 7.0, с помощью пакета Statistica от компании StatSoft и программы Microsoft Excel 2010. Распределение показателей определяли с помощью метода Колмогорова-Смирнова, так как распределение было неправильным, для обработки результатов использовали непараметрические методы. Показатели представлены в виде медианы и интерквартильного интервала [25-й и 75-й процентиля], обозначаемых Me [25; 75]. Для оценки значимости различий независимых групп использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Количественная оценка линейной связи определялась с использованием коэффициента корреляции по Спирмену (r). Различия между выборками считались достоверными при значении для $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

У 77 пациентов, страдающих АБП, на фоне небольшой гепатомегалии уровни трансаминаз были в пределах референтных значений, с учетом данных УЗИ, эти пациенты имели диагноз стеатоза на фоне пагубного употребления алкоголя. В группе с АБП у лиц с гиперферментемией в 26% случаев отмечено повышение АЛТ и в 34% - повышение АСТ, что свидетельствует о наличии синдрома цитолиза, который обычно маркирует наличие алкогольного стеатогепатита (табл. 1). Медиана концентрации АЛТ при АБП в среднем в 2 раза превышала значения группы контроля ($p_{1-2} < 0,0001$). Уровень АЛТ у пациентов с ПБЦ в 4,5 раза был выше показателей здоровых лиц и почти в 3 раза превышал значение больных

с алкогольным поражением печени, что свидетельствует о большей выраженности цитолиза при ПБЦ ($p_{2-3}=0,00373$).

Таблица 1

Сравнительный анализ показателей контрольной группы, пациентов с алкогольной болезнью печени и первичным билиарным циррозом

Показатель	Контрольная группа (n=92)	АБП (n=101)	БЦП (n=28)	p 1-2	p 1-3	p 2-3
АЛТ (Ед/л)	19 [15; 25]	27 [18; 63,5]	71 [43,25; 81,25]	< 0,0001	< 0,0001	0,00375
АСТ (Ед/л)	19 [17; 22]	41 [23; 64,00]	47,5 [31,5; 67,25]	< 0,0001	< 0,0001	0,13886
Соотношение АСТ/АЛТ	1,042 [0,792; 1,292]	1,04 [0,822; 1,5]	0,91 [0,51; 1,22]	0,4054	0,104	0,05955
Тромбоциты (*10 ⁹ /л)	251 [226; 286]	200 [161; 243]	161,5 [110; 225,25]	<0,0001	0,00048	0,1566
APRI	0,18 [0,16; 0,23]	0,48 [0,27; 0,86]	0,61 [0,41; 1,48]	< 0,0001	< 0,0001	0,0235
Гиалуроновая кислота, нг/мл	17,3 [8; 26,1]	40,7 [29,3; 69,9]	108,05 [58,25; 285,28]	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Примечание: p1-2 – значимость различий в группах здоровых и больных АБП; p 1-3 – значимость различий в группах здоровых и больных БЦП; p 2-3 – значимость различий в группах больных АБП и ПБЦ.

Уровень АСТ как при АБП, так и в группе ПБЦ в 2 и более раза был выше по сравнению со здоровыми лицами, но не имел достоверных отличий между группами. Соотношение АСТ/АЛТ в группах АБП и ПБЦ было около 1 и не отличалось от группы контроля (табл. 1). Преимущественное повышение АСТ по сравнению с АЛТ характерно для АБП, то есть этот показатель повышается и без формирования ЦП [9]. Индекс APRI, оцениваемый по соотношению АСТ и тромбоцитов, у пациентов с АБП превышал значение в группе контроля: 0,48 [0,27; 0,86] и 0,18 [0,16; 0,23] соответственно ($p_{1-2}<0,001$). Вклад в повышение индекса APRI вносит не только увеличение концентрации АСТ, но и снижение

тромбоцитов. Количество тромбоцитов у лиц с АБП составило 200 [161; 243] $\cdot 10^9/\text{л}$, что было достоверно ниже показателя в группе контроля. При этом тромбоцитопения менее $160 \cdot 10^9/\text{л}$ выявлена у 18% пациентов с АБП, что может быть связано с токсическим воздействием алкоголя на мегакариоцитарно-тромбоцитарный росток кроветворения, снижением выработки тромбопоэтина в печени и обычно проходит на фоне абстиненции [9]. При ПБЦ тромбоцитопения была более выраженная по сравнению с группой лиц с АБП: медиана составила $161,5 \cdot 10^9/\text{л}$, но достоверных отличий между группами больных выявлено не было (табл. 1). Тромбоцитопения у пациентов с ПБЦ в большей степени зависит от формирования портальной гипертензии и гиперспленизма, может также быть связанной с уменьшением синтеза тромбопоэтина, аутоиммунными нарушениями [10]. То, что индекс APRI при АБП был достоверно выше показателя в группе контроля, может свидетельствовать о начальных стадиях ФП, хотя преимущественное повышение АСТ по сравнению с АЛТ характерно для АБП и без формирования ЦП [8]. У ряда пациентов с поражением печени на фоне алкогольной зависимости значение APRI было более 0,65, что может предполагать наличие ЦП, тем не менее в данной группе цирроз был исключен клинико-инструментальными методами. Индекс APRI при ПБЦ был достоверно выше не только в сравнении с группой контроля, но и по сравнению с группой АБП и составил 0,61 [0,41; 1,48], при этом у большинства пациентов он был выше 0,63-0,65 и позволял предположить выраженный ФП, соответствующий стадии F3-F4 по шкале METAVIR. Прямая корреляция между шкалой METAVIR и APRI, по данным литературы, является слабой, хотя и достоверной, и составляет 0,24 [7].

Медиана концентрации ГК у больных АБП в 2,4 раза превышала показатель здоровых лиц, что подтверждает раннее развитие ФП в данной группе ($p_{1-2} < 0,0001$) [3]. У больных ПБЦ уровень ГК в 5 раз выше, чем в группе контроля, и в 3 раза выше, чем в группе АБП, и составил 108,05 [58,25; 285,28] нг/мл ($p_{2-3} < 0,0001$). У пациентов с АБП уровень ГК не достигал 100 нг/мл, что может с чувствительностью 93% и специфичностью 80% свидетельствовать об отсутствии ЦП [5]. В группе с ПБЦ, наоборот, концентрация ГК выше 100 нг/мл имела у большинства пациентов (53%), что указывает о тяжелом фиброзе/циррозе печени, что соответствует F4 по шкале METAVIR.

При проведении корреляционного анализа не обнаружено взаимосвязей показателей фиброза с возрастом пациентов как при АБП, так и у больных ПБЦ. В группе больных АБП выявлена связь между непрямым тестом ФП – индексом APRI и активностью АЛТ ($p=0,0015$), то есть выраженность фиброза коррелирует с выраженностью цитолиза (табл. 2). Тем не менее прямой маркер ФП – ГК не имеет корреляций с непрямыми маркерами фиброза у лиц с АБП.

Корреляционный анализ показателей фиброза в группе больных алкогольной болезнью печени и первичным билиарным циррозом

Показатели	АБП (n=101)		БЦП (n=28)	
	r1	p1	r2	p2
APRI и АЛТ	0,47	0,0015	0,02	0,9177
APRI и АСТ/АЛТ	0,25	0,1127	0,50	0,0065
Гиалуриновая кислота и АСТ	-0,02	0,9088	0,48	0,0096
Гиалуриновая кислота и APRI	-0,05	0,7341	0,63	0,0003

Примечание: r1 – коэффициент корреляции Спирмена в группе больных АБП; r2 – коэффициент корреляции Спирмена в группе больных ПБЦ; p1 – значимость корреляций в группе больных АБП; p2 – значимость корреляций в группе пациентов с ПБЦ.

Полученные результаты могут отражать относительно слабое развитие фиброза у основной массы пациентов с алкогольной зависимостью, что соответствует хотя и достоверному, но не очень значительному повышению ГК при АБП. Следовательно, непрямые маркеры фиброза – соотношение АСТ/АЛТ и APRI, не являются достоверными показателями ФП у лиц с АБП. В группе ПБЦ выявлены взаимосвязи между непрямими маркерами ФП: APRI и АСТ/АЛТ ($p=0,0065$). Прямой маркер фиброза – ГК в группе ПБЦ демонстрирует достоверные корреляции с APRI ($r=0,63$) и АСТ ($r=0,48$). Прямая корреляция между шкалой METAVIR и индексом APRI, по данным литературы, составляет 0,24 [7]. Следовательно, непрямые доступные тесты фиброза при ПБЦ, наряду с ГК, могут применяться для оценки и мониторинга выраженности ФП.

Заключение

Таким образом, у лиц с поражением печени при алкогольной зависимости для оценки выраженности ФП непрямые тесты - соотношение АСТ/АЛТ и индекс APRI - являются неинформативными. Прямой маркер фиброза – ГК - у лиц с АБП адекватно отражает выраженность развития соединительной ткани в печени и может использоваться для диагностики и мониторинга ФП. У пациентов с ПБЦ непрямые доступные тесты фиброза – АСТ/АЛТ и APRI - могут применяться в широкой клинической практике для оценки выраженности и прогрессирования ФП, но наиболее чувствительным тестом является прямой маркер фиброза – ГК.

Список литературы

1. Wynn A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J. Pathol.* 2008. V. 214. P. 199–210.
2. Lombardi R., Buzzetti E., Roccarina D., Tsochatzis E.A. Non-invasive assessment of liver fibrosis in patients with alcoholic liver disease. *World J. Gastroenterol.* 2015. V. 21. P. 11044-11052
3. Rostami S., Parsian H. Hyaluronic acid: from biochemical characteristics to its clinical translation in assessment of liver fibrosis. *Hepat. Mon.* 2013. V. 13. P. 1–9.
4. Neuman M.G., Cohen L.B., Nanau R.M. Hyaluronic acid as a non-invasive biomarker of liver fibrosis. *Clinical biochemistry.* 2016. V. 49(3). P. 302-315.
5. Щёктова, А.П., Булатова И.А., Ройтман А.П. Чувствительность и специфичность определения гиалуроновой кислоты, коэффициента де Ритиса и ВЭФР для диагностики ХГ и ЦП // *Пермский медицинский журнал.* 2013. Том. 30. № 4. С. 84-89.
6. Sebastifni G., Vario A., Guido M. et al. Non-invasive asstsmnt of liver fibrosis. *Ann Gastroenterol.* 2012. V. 25(3). P. 218–231.
7. Papadopoulos N., Vasileiadi S., Papavdi M., Sveroni E., Antonakaki P., Dellaporta E., Koutli E., Stavroula M., Manolakopoulos S., Koskinas J., Deutschb M. Liver fibrosis staging with combination of APRI and FIB-4 scoring systems in chronic hepatitis C as an alternative to transient elastography. *Ann. Gastroenterol.* 2019. V. 32(5). P. 498–503.
8. Thiele M., Madsen B.S., Hansen J.F., Detlefsen S., Antonsen S., Krag A. Accuracy of the enhanced liver fibrosis test vs fibrotest, elastography and indirect markers in detection of advanced fibrosis in patients with alcoholic liver disease. *Gastroenterology.* 2018. V. 154(5). P. 1369-1379.
9. EASL Clinical Practical Guidelines: Management of alcohol-related liver disease. *J. Hepatol.* 2018. V. 69. P. 154-181.
10. EASL Clinical Practice Guidelines: The diagnosis and management of patients with primary biliary cholangitis. *J. Hepatol.* 2017. V. 67. P. 145–172.
11. EASL Clinical Practice Guidelines: Non-invasive test for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J. Hepatol.* 2015. V. 63. P. 237–264.