

Ю.М. Степанов, д.м.н., В.И. Диденко, д.м.н., ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины», г. Днепропетровск

Современные методы верификации фиброза печени

Роль фиброза в патогенетическом процессе развития диффузных заболеваний печени важна и не вызывает сомнения. Активность фиброгенеза зависит от уровня различных этиологических повреждающих факторов и длительности их воздействия. Фиброз печени — это динамический процесс, отражающий степень нарушения баланса между фиброгенезом и фибринолизом. Верификация стадий фиброза играет важную роль не только в дифференциальной диагностике диффузных заболеваний печени, но и в динамическом контроле за эффективностью проводимых лечебных мероприятий.

Различают инвазивные, малоинвазивные и неинвазивные методы верификации фиброза печени (рис. 1).

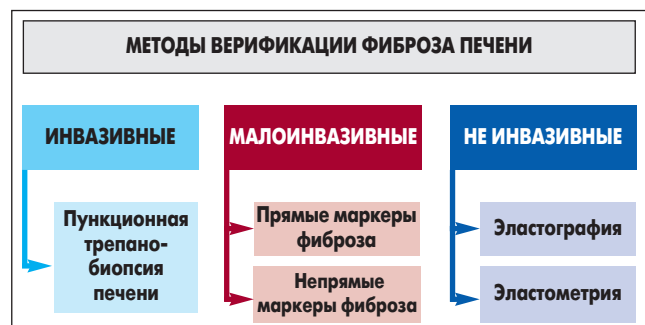


Рис. 1. Методы верификации фиброза печени

Большой интерес представляют неинвазивные ультразвуковые методы верификации в связи со своей безопасностью, возможностью необходимых динамических повторений в процессе лечения, получением результата в конце исследования (до 15–20 мин). Различают эластографию и эластометрию (рис. 2).

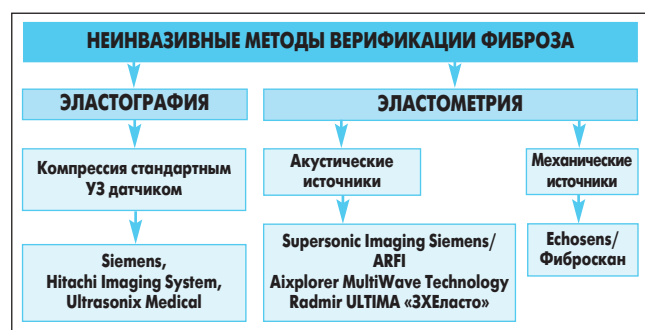


Рис. 2. Неинвазивные методы верификации фиброза печени

В основе этих методов лежит физический процесс определения качественного и количественного анализа механических свойств тканей с помощью показателя эластичности или упругости — модуля Юнга (рис. 3).

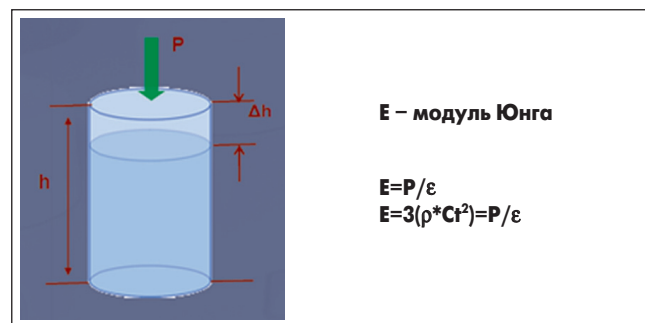


Рис. 3. Определение модуля Юнга

Термин «эластичность» является синонимом термина «упругость», так как латинское слово elasticus означает «упругий». В зарубежных странах метод эластографии называют виртуальной пальпацией. Принципиальное различие между эластографией и эластометрией в том, что в основе эластографии используется статическая компрессия, создаваемая либо рукой исследователя путем компрессии и декомпрессии подлежащих тканей ультразвуковым датчиком с адекватной амплитудой смещения датчика 1–2 мм и оптимальной скоростью движения датчиком 2 раза в секунду, либо пульсацией окружающих сосудов, либо специальным ультразвуковым импульсом, в результате которого происходит деформация ткани (рис. 4).

В этом случае модуль Юнга определяется по формуле: $E = P/\epsilon$, где P — величина компрессии, а ϵ — относительная деформация столбика ткани, которую называют «напряжением», или «стрейном». Так как величина компрессии не имеет постоянного значения

и отсутствует обязательное условие — неподвижность платформы, на которой происходит сдавление ткани, то происходит не только сдавление, но и перемещение органа, а, следовательно, получить количественные показатели не представляется возможным. Можно получить лишь цветное изображение, в котором более упругую ткань обозначают HD (от англ. hard — твердый), а менее упругую ткань обозначают как SF (от англ. soft — мягкий) и в основе разделения ткани по цветам лежит относительный показатель деформации одной ткани по отношению к другой (этот показатель называют SR, strain ratio).



Рис. 4. Принцип статической эластографии

Компрессионная эластография используется для качественной оценки упругих свойств тканей, для определения различных объемных образований в органах (опухоли, кисты и др.), но не дает абсолютных числовых значений упругости в кПа (рис. 5).

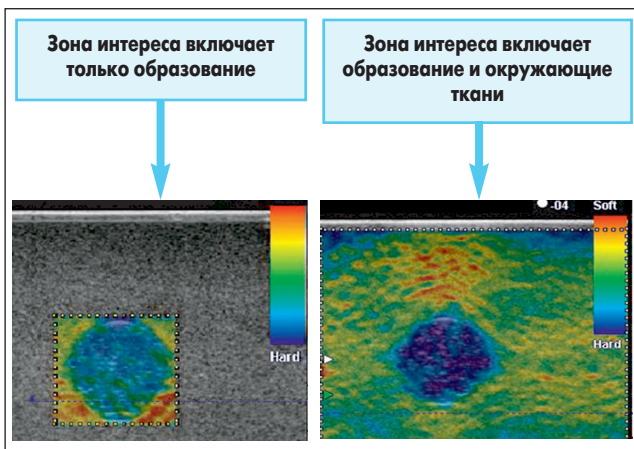


Рис. 5. Данные статической эластографии

Оценить эластичность печени, в основе которой лежит плотность ткани, которая прямо пропорциональна стадии фиброза печени, можно при помощи динамической эластографии, называемой в различных источниках эластографией сдвиговой волны (SWE). Физически сдвиговая волна представляет собой упругую поперечную волну, перпендикулярную ультразвуковой. Иногда можно встретить термин «транзиторная эластография», но все чаще применяется термин «эластометрия».

Эластометрия позволяет получать показатели эластичности печени в кПа в числовом выражении, то есть производить абсолютные замеры. Этот метод верификации фиброза базируется на уравнении $E = 3(\rho \cdot C^2)$ (где E — модуль упругости Юнга, измеряемый в паскалях (Па), C — скорость сдвиговой волны, ρ — плотность вещества). Генерация сдвиговых волн в клинической практике осуществляется механическим и акустическим способом. Механический способ используется в ультразвуковом аппарате Фиброскан компании Echosens (Франция). Методика проведения эластометрии следующая.

В диагностическом датчике в средней его части имеется источник механических колебаний (рис. 6). Механические колебания вызывают в ткани печени эластические волны, скорость распространения которых зависит от плотности печени (стадии фиброза) (рис. 7).



Ю.М. Степанов

Сама процедура проводится в положении пациента лежа на спине, с отведенными за голову руками. Проводится не менее 10 успешных измерений в VIII–IX межреберье справа от заднеподмышечной до переднеподмышечной линии (рис. 8).

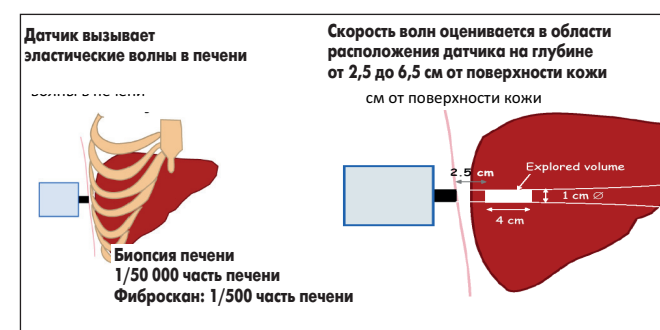


Рис. 6. Принцип работы датчика при эластометрии

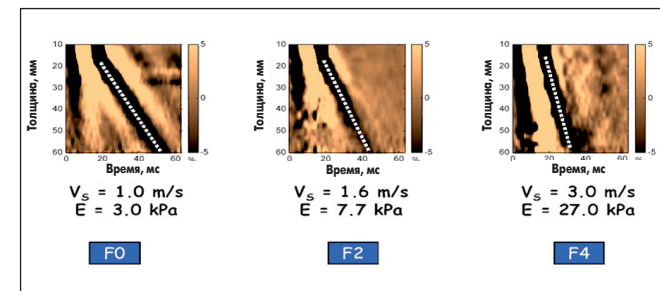


Рис. 7. Корреляция данных эластометрии печени со шкалой фиброза Metavir

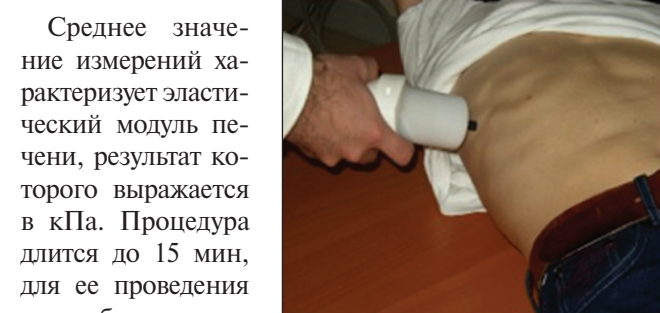


Рис. 8. Методика проведения эластометрии

Среднее значение измерений характеризует эластический модуль печени, результат которого выражается в кПа. Процедура длится до 15 мин, для ее проведения не требуется голодания, отказа от приема медикаментов. Среднее значение по результатам десяти успешных замеров принимается за истинное значение эластичности печени. Ограничивают диагностическую эффективность эластометрии асцит и ожирение. При ожирении, когда имеет место толстая жировая клетчатка, применяется датчик XL. ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины» располагает возможностью проведения эластометрии печени аппаратом FibroScan 502 (модель 2013 г.), позволяющим определять не только уровень упругости печени, зависящий от стадии фиброза печени, но и выраженность стеатоза (снижение амплитуды ультразвукового сигнала зависит и от выраженности стеатоза печени), измеряемую числовыми значениями в децибелах на метр.

Следующая неинвазивная методика верификации фиброза (рис. 2) основана на акустическом способе генерации сдвиговых волн с использованием технологии ARFI - Acoustic Radiation Force Impulse, применяемой в диагностической системе S2000 Siemens (Германия) с определением скорости сдвиговой волны, выраженной числовым значением в м/с. Более

совершенная технология MultiWave (фронта сдвиговой волны) применяется в аппаратах SuperSonic Imagine (Франция), Aixplorer MultiWave Technology (USA), Radmir ULTIMA «ЗХЕласто», позволяющая получать цветные эластограммы и производить эластометрию с получением цифрового значения, выраженного в кПа. Эластометрия может производиться в изучаемом органе или его части с помощью одного или нескольких так называемых пробных объемов, свободно перемещаемых и изменяемых по размерам. Цифровые данные могут быть представлены либо в виде показателей скорости сдвиговых волн (М/с), либо упругости (кПа). ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины» планирует приобрести ультразвуковой аппарат с технологией MultiWave, что позволит определять стадию фиброза у больных со значительной избыточной массой тела, сопоставлять результаты различных методик эластометрии и неинвазивно верифицировать фиброз и в поджелудочной железе.

В тех случаях когда в лечебных учреждениях нет аппаратов для неинвазивной верификации фиброза, можно воспользоваться малоинвазивными методами, для которых необходима венозная кровь человека. Эта группа условно делится на не прямые и прямые маркеры фиброза.

Прямые маркеры фиброза характеризуют метаболизм внеклеточного матрикса (фиброгенез и фибринолиз) и/или изменения в стеллатных (звездчатых) клетках, которые доминируют в профиброзных клетках. К прямым маркерам фиброза относятся:

— Гиалуриновая кислота — полисахарид, присутствующий в экстрацеллюлярном матриксе и повышающийся в сыворотке пациентов с фиброзом печени.

— Прокollaгеновые пептиды. N-терминальный пептид проколлагена III — продукт расщепления коллагена, предложен как сывороточный маркер фиброза печени еще в 1979 году.

— Коллагены IV и VI, матриксные металлопротеиназы — семейство ферментов, расщепляющих белки клеточного матрикса, когда такие белки в избытке (фибринолиз).

— TIMP-1 — тканевой ингибитор металлопротеиназы 1, опосредованно способствует синтезу белков матрикса.

— YKL-40 — гликопротеин участвующий в расщеплении экстрацеллюлярного матрикса.

— Ламинин и пепсин-резистентный фрагмент ламинина — основные неколлагеновые гликопротеины, сывороточный уровень которых увеличивается при хронических заболеваниях печени независимо от этиологии и отражает наличие перисинуоидального фиброза.

Непрямые маркеры фиброза — сывороточные маркеры — молекулы, высвобождаемые в кровь при воспалительном процессе в печени:

1. Аминотрансферазы: АЛТ — наиболее чувствительный и специфичный индикатор гепатоцеллюлярного повреждения (воспаления и некроза гепатоцитов) и АСТ. Определяется также соотношение уровней АСТ/АЛТ (коэффициент Де Ритиса).

2. Молекулы, синтезируемые, регулируемые или секретируемые печенью, например:

— аполипопротеин А1 — многократно показано и подтверждено, что с повышением стадии фиброза сывороточный уровень Апо А1 снижается;

— альфа-2-макроглобулин (А2М) — повышенный А2М — маркер тяжести воспалительного процесса в печени;

— количество тромбоцитов — не прямой показатель тяжести фиброза;

— холестерин и билирубин;

— гаптоглобин — связывает свободный гемоглобин, высвобождающийся из эритроцитов. Положительный реактант острой фазы. Имеет отрицательную связь с фиброзом печени. Пониженный гаптоглобин — маркер тяжести воспалительного процесса в печени;

— гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТП). По крайней мере пять процессов повышают активность ГГТП: цитолит, холестаз, интоксикация алкоголем, опухолевый рост в печени и воздействие гепатотоксичных препаратов (лекарственный гепатит) и др.

Существует много различных тестов, использующих два и более не прямых маркера фиброза печени. Вот некоторые из них:

APRI: АСТ/ количество тромбоцитов.

AST/ALT ratio (AAR): АЛТ/АСТ.

Model 3: АСТ/АЛТ, протромбиновое время.

FIB-4: АЛТ/АСТ, количество тромбоцитов, возраст.

FibroIndex: АСТ, гамма-глобулин, количество тромбоцитов.

Wai C.T. et al., 2003: АСТ, щелочная фосфатаза, количество тромбоцитов.

Hui A.Y. et al., 2005: билирубин, альбумин, количество тромбоцитов, индекс массы тела.

Forns' score: ГГТП, холестерин, количество тромбоцитов, возраст.

Унифицированный подход с использованием стандартизованных методик и приведением нескольких показателей не прямых маркеров фиброза в абсолютные единицы с переводом их в стадию и степень активности по METAVIR используется в ряде коммерческих тестов, используемых в сетевых лабораториях.

ФиброТест (FibroTest) совмещает пять анализов (альфа-2-макроглобулин (А2М), (Апо 1А), билирубин, гаптоглобин (Hr), гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТП)). На основе полученных результатов вычисляют стадию фиброза печени по METAVIR (рис. 9).

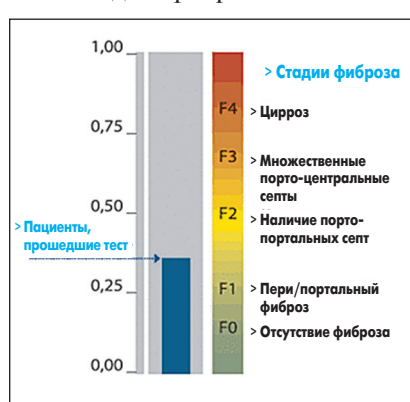


Рис. 9. Определение стадий фиброза по METAVIR согласно результатам FibroTest

стадию стеатоза печени).

ЭшТест (AshTest) = (SteatoTest) + АСТ (вычисляют алкогольный стеатогепатит у людей, склонных к употреблению спиртного).

НэшТест (NashTes) = (AshTest) + вес, глюкоза (выявляет неалкогольный стеатогепатит у пациентов с повышенным весом и больных сахарным диабетом).

ФиброМакс (FibroMax) = (NashTes) + пол, рост.

Ограничением в широком использовании тестов серии ФиброТест-ФиброМакс является то, что они используют не прямые маркеры фиброза, на которые влияет множество факторов. Например, за три дня до исследования необходимо прекратить прием синтетических фармпрепаратов, алкоголя. На показатели влияет гемолиз эритроцитов (снижает уровень гаптоглобина), синдром Жильбера (при котором повышен билирубин), имеющаяся у пациента инфекция повышает уровень острофазных белков, а, следовательно, гаптоглобин и альфа-2-макроглобулин повышаются и т.д. Вышеперечисленные факторы могут приводить к ошибочным результатам.

В ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины» из малоинвазивных методов определения фиброза печени кроме не прямых маркеров используются и прямые маркеры фиброза: гиалуриновая кислота, гексозамины, оксипролин белковосвязанный, металлопротеиназа-1, ламинин (рис. 10).

Установлено, что соотношение уровня ламинина к уровню металлопротеиназы-1 является чувствительным биомаркером для установления стадии фиброгенеза: значения коэффициента от 1 до 2 отвечает начальным стадиям фиброза, выше 2 свидетельствует о циррозе печени.

К инвазивным методам относится так называемый золотой стандарт — пункционная трепанобиопсия.

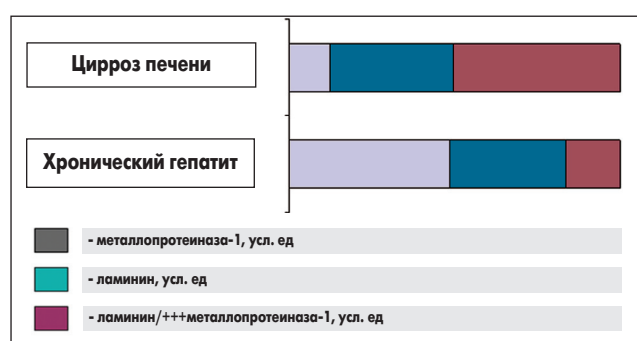


Рис. 10. Соотношения прямых маркеров фиброза при циррозе печени и хроническом гепатите

Отличие пункционной трепанобиопсии от просто биопсии в том, что при обычной биопсии используется гладкая снаружи и внутри игла, которой пунктируется полостное образование с целью забора его содержимого и такая игла плохо подходит для забора печеночной ткани. Биопсионный материал может частично или полностью выскальзывать при вынимании иглы. В трепанобиопсии печени используется специальная игла (автоматическая — MAGNUM или полуавтоматическая — COLT и др.), состоящая из внутренней и наружной частей, где выставляется длина биопсионного столбика — 1, 1,5 или 2 см, и при срабатывании наружная часть иглы «срезает» биопсионный столбик диаметром с обычную нитку, сохраняя целостность материала для дальнейшего исследования. Современная трепанобиопсия печени имеет высокую степень безопасности при выполнении стандарта исследования. В ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины» больной переводится в хирургическое отделение, проводится УЗИ печени для определения безопасного акустического окна. С целью профилактики кровотечений назначаются гемостатические препараты. В день биопсии проводится премедикация — анальгетики и седативные препараты внутримышечно, обезболивание с помощью местной анестезии участка введения иглы. Под контролем УЗИ проводится трепанобиопсия иглой COLT SHORT (рис. 11).

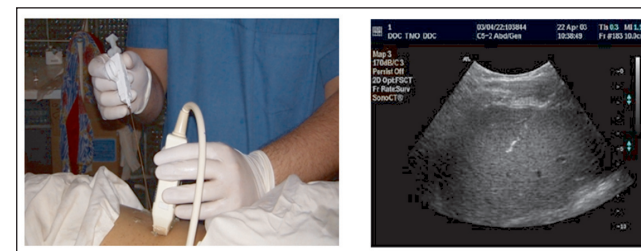


Рис. 11. Методика проведения трепанобиопсии под УЗИ-контролем

В момент ввода иглы больной задерживает дыхание на полном выдохе (с целью минимизации повреждения). Вся процедура проводится под местной анестезией в течение 15 мин. За это время в 7 сегменте правой доли печени берется «веерно» три биопсионных столбика. Проводится дальнейшее наблюдение за пациентом в динамике в течение 24 ч с УЗИ-контролем. За последний год в нашем институте проведено более 70 трепанобиопсий печени.

Трепанобиопсия печени позволяет получать качественный биопсионный материал для дальнейшего анализа и заключения патоморфологами. Международные требования к морфологической оценке фиброза печени предусматривают заключение по METAVIR стадии фиброза и степени активности. Стадии фиброза: F0 — отсутствие фиброза, F1 — расширение портальных трактов без формирования септ, F2 — портальный фиброз в сочетании с единичными септами, F3 — портальный фиброз в сочетании с множественными септами, без ложных долек, F4 — цирроз печени. Степени активности: A0 — активность отсутствует, A1 — минимальная активность, A2 — умеренная активность, A3 — высокая активность.

В ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины» дополнительно используется метод морфометрии, который позволяет получить индекс фиброза, или процентное соотношение площади фиброзной ткани к площади всего биоптата. Биопсию печени называют золотым стандартом, потому что кроме стадии, степени и индекса фиброза морфологи в своем заключении отражают и апоптоз, и поражение желчных протоков, некрозы и дистрофии гепатоцитов, изменение синусоидов и наличие воспалительного инфильтрата, что несомненно, дает значительный информативный материал для клиницистов. Цифровые снимки биоптатов мы предоставляем пациенту, если у него возникает желание проконсультироваться у других специалистов.

К сожалению, не во всех научных и клинических учреждениях есть возможность проводить пункционную трепанобиопсию, содержать лабораторию патоморфологии и морфологов соответствующего уровня, определять в крови прямые маркеры фиброза, неинвазивным методом верифицировать стадии фиброза. В таких случаях можно направить больного на обследование в ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины».