

*На правах рукописи*

ШИРОКИХ ИЛЬЯ НИКОЛАЕВИЧ

**МАРКЕРЫ ФИБРОЗА ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ГЕПАТИТАХ:  
ИХ ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ И ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ**

14.01.04 – внутренние болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Пермь  
2014

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Пермская государственная медицинская академия имени академика Е.А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор  
кафедры госпитальной терапии  
ГБОУ ВПО «Пермская государственная  
медицинская академия им. ак. Е.А.Вагнера»  
Минздрава России

**Хлынова Ольга Витальевна**

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий кафедрой врача общей  
практики и внутренних болезней с курсом  
скорой медицинской помощи ФПК и ПП  
ГБОУ ВПО «Ижевская государственная  
медицинская академия» Минздрава России

**Пименов Леонид Тимофеевич**

доктор медицинских наук, доцент кафедры  
факультетской терапии ГБОУ ВПО «Южно-  
Уральский государственный медицинский  
университет» Минздрава России

**Пирогова Ирина Юрьевна**

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ульяновский государственный университет»

Защита состоится «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2014 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.067.03 при ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е.А. Вагнера» Минздрава России (614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГБОУ ВПО «ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера» Минздрава России (614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26)

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2014 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

**Малютина Наталья Николаевна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность проблемы

Актуальность проблемы хронических гепатитов (ХГ) обусловлена их высокой социально-экономической значимостью, широкой распространенностью и клиническими особенностями, включая длительное бессимптомное течение и склонность к постепенному прогрессированию. Примерно 95% данной патологии обусловлено вирусным и алкогольным генезом заболевания, а также метаболическими нарушениями в рамках неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) (Michitaka K., Nishiguchi S., Aoyagi Y., 2010; Kim W.R., Brown R.S. Jr., 2002).

В России и мире заболеваемость хроническим гепатитом С (ХГС) продолжает увеличиваться (Бобров А.Н., Павлов А.И., Плюснин С.В., 2006; Ивашкин В.Т., Ющук Н.Д., Маевская М.В., 2013). Приблизительно 170 млн. человек на Земле заражено HCV-инфекцией (Albeldawi M., Ruiz-Rodriguez E., Carey W.D., 2010; EASL Clinical Practice Guidelines, 2011). В отношении вирусного гепатита В отмечается постепенное уменьшение заболеваемости, что связано с успехом программ вакцинопрофилактики (Онищенко Г.Г., Жебрун А.Б., 2010; Brooks J., Gelson W., Rushbrook S.M., 2013). В то же время, возбудитель HBs-инфекции остается одним из самых распространенных в человеческой популяции и поражает, по данным ВОЗ, до 2 млрд. человек, при этом хронической формой инфекции страдают приблизительно 400 млн. людей на планете (Бобров А.Н., 2011; Brooks J., Gelson W., Rushbrook S.M., 2013). В нашей стране частота первичного выявления хронического гепатита В (ХГВ) сохраняется на одном уровне в течение последнего десятилетия (Онищенко Г.Г., Жебрун А.Б., 2010).

Не менее актуальной является проблема алкоголь-ассоциированных заболеваний печени. К сожалению, Россия входит в пятерку мировых лидеров по объему общего потребления алкоголя на душу населения (Global status report on alcohol and health, ВОЗ, 2011), причем рост данного показателя сопровождается увеличением частоты обусловленных алкоголем поражений печени и смертности от них (Бобров А.Н., Павлов А.И., Плюснин С.В., 2006; Хазанов А.И., Васильев А.П., Пехташев С.Г., 2006). В большинстве развитых стран злоупотребление спиртными напитками также весьма распространено, так алкогольная болезнь печени (АБП) диагностируется у 10-25% мужского населения этих государств (Bruha R., Dvorak K., Petrtyl J., 2012; Cainelli F., 2012).

НАЖБП страдает приблизительно одна треть жителей стран западной Европы и США (Brea A., Mosquera D., Martin E., 2005; Musso G., Gambino R., Cassader M., 2011), где данная

патология выходит на первое место по частоте среди других хронических заболеваний печени (Dyson J.K., McPherson S., Anstee Q.M., 2013; Vernon G., Baranova A., Younossi Z.M., 2011). В России распространенность НАЖБП составляет 27% (Никитин И.Г., 2010). Тесная ассоциация данной патологии с сердечнососудистым риском и нарушениями углеводного обмена, а также возможность прогрессирующего течения с исходом в цирроз печени (ЦП) обуславливают неослабевающий интерес исследователей к данному заболеванию. Более того, показано, что НАЖБП наряду с вирусным и алкогольным ЦП является фактором, повышающим риск гепатоцеллюлярной карциномы (Duan X.Y., Zhang L., Fan J.G., 2014; Rosmorduc O., 2013).

В последнее десятилетие достигнуты значительные успехи в понимании патогенеза ХГ. Установлено, что морфологической основой и универсальным механизмом развития и прогрессирования данной группы заболеваний является фиброз печени (Liu T., Wang X., Karsdal M.A., 2012; Suh Y.G., Jeong W.I., 2011). Именно выраженность фибропроцесса определяет тяжесть гепатита, степень нарушения функции печени и прогноз. От стадии гепатофиброза зависит выбор стратегии лечения ХГ (Ивашкин В.Т., Ющук Н.Д., Маевская М.В., 2013; Parkes J., Guha I.N., Harris S., 2012). Поэтому разработка способов диагностики фиброза печени оказалась в числе актуальных задач современной медицины.

Несмотря на то, что пункционная биопсия печени сохраняет значение «золотого стандарта» в оценке стадии фиброза, ее инвазивность и сложность проведения стимулировали научное сообщество к созданию большого количества альтернативных методик: безболезненных и безопасных.

В настоящее время для диагностики печеночного фиброза предложено множество лабораторных тестов, основанных на измерении концентрации тех или иных веществ в сыворотке крови (Щекотов В.В., Щекотова А.П., Булатова И.А., 2011; Poynard T., Ngo Y., Munteanu M., 2011). Среди них имеются как маркеры, непосредственно участвующие в процессе фиброгенеза, так и косвенные показатели, отражающие снижение функциональной активности органа. Однако ни один из известных лабораторных тестов не является специфичным для печени, и его значение может изменяться под влиянием причин, не связанных с гепатофиброзом. Этим в частности объясняется низкая диагностическая точность лабораторных тестов, особенно в отношении начальных стадий фиброза. Единственным биохимическим методом, который был признан рациональной альтернативой биопсии печени, является Фибротест (Poynard T., Lassailly G., Diaz E., 2013; Shaheen A.A., Wan A.F., Myers R.P., 2007), но высокая стоимость данного исследования делает его недоступным для значительного числа пациентов.

Существуют инструментальные методики, позволяющие непосредственно измерить эластичность печеночной ткани и таким образом оценить выраженность гепатофиброза. К ним относятся несколько способов ультразвуковой эластографии и магнитно-резонансная эластография. Данные методы продемонстрировали высокую точность в определении стадий фиброза (Chon Y.E., Choi E.H., Song K.J., 2013; Friedrich-Rust M., Buggisch P., de Knegt R.J., 2013). Недостатком этих технологий является необходимость использования узкоспециализированного и дорогостоящего медицинского оборудования, обучение персонала и, как следствие, высокая стоимость диагностической процедуры. По этой причине упомянутые методы эластографии доступны лишь в специализированных лечебных учреждениях и для ограниченного контингента больных.

Разработано также несколько способов диагностики фиброза печени, основанных на оценке гемодинамики в сосудах брюшной полости методом дуплексного сканирования (Lutz H.H., Gassler N., Tischendorf F.W., 2012; Rocha H.L., Diniz A.L., Borges V.F., 2012). Отдельные исследования показали довольно высокую точность таких методик в оценке гепатофиброза, однако, эта группа диагностических методов остается малоизученной.

Таким образом, до сих пор не найден «идеальный» способ диагностики фиброза печени: безопасный, высокоточный и общедоступный.

Следует также заметить, что все известные методы оценки фиброза печени наиболее подробно исследованы при хронических вирусных гепатитах (Пирогова И.Ю., 2012), в то время как другим хроническим заболеваниям печени уделяется намного меньшее внимание. Остается неясной диагностическая значимость многих методик при таких широко распространенных заболеваниях, как алкогольная болезнь печени и неалкогольная жировая болезнь печени.

Изложенные выше позиции послужили предпосылкой для формулирования гипотезы, а также определения цели и задач настоящего исследования.

### **Гипотеза**

Так как фиброз печени является универсальным патогенетическим механизмом хронических гепатитов, а этиологические факторы влияют на характер и темп его прогрессирования, включая исход заболевания, то должны существовать различия в характеристиках гепатофиброза при гепатитах различного генеза, что в свою очередь должно иметь свое клиническое, диагностическое и прогностическое значение.

### **Цель работы**

Изучить особенности биохимических и ультразвуковых маркеров фиброза печени у лиц с различным генезом хронических гепатитов.

### **Задачи исследования**

1. Оценить характер, выраженность и особенности фиброза печени у лиц с хроническими гепатитами в зависимости от этиологического фактора на основании сывороточных маркеров фиброза.
2. Изучить характер изменений гемодинамических характеристик сосудов брюшной полости в зависимости от генеза гепатита и степени фиброза.
3. Определить диагностическую значимость лабораторных и инструментальных маркеров фиброза у лиц с хроническими гепатитами различного генеза.
4. Оценить возможность создания математической модели для оценки фиброза печени на основании неинвазивных методик.

### **Научная новизна исследования**

В работе показаны особенности биохимических маркеров: альфа-2-макроглобулина, аполипопротеина А1 и гаптоглобина у пациентов с хроническими гепатитами вирусной и алкогольной этиологии, а также с неалкогольной жировой болезнью печени, в сопоставлении с выраженностью фиброза по данным ультразвуковой эластографии. Изучены ультразвуковые параметры кровотока в сосудах брюшной полости в исследуемых группах и выявлены их характерные изменения у лиц с различными этиологическими вариантами хронических гепатитов в сопоставлении с разными стадиями фиброза.

Впервые предпринята попытка создания комплексного способа диагностики гепатофиброза на основе лабораторных и ультразвуковых параметров с применением статистического метода множественной регрессии у больных с разными этиологическими формами хронического гепатита, в том числе для определения выраженности фибропроцесса.

### **Практическая значимость исследования.**

Результаты проведенного исследования непосредственно относятся к практической медицине. Описаны особенности биохимических параметров и характеристик гемодинамики в сосудах брюшной полости в сравнении с плотностью печени при различных этиологических вариантах хронического гепатита. Установлено, что фиброз печени при

разных формах данного заболевания обладает характерными чертами, которые влияют на темп прогрессирования, особенности клинической картины и прогноз, что может способствовать выбору рациональных схем терапии. Показано, что с помощью математических моделей, основанных на комбинации биохимических и ультразвуковых параметров можно дифференцировать выраженность фиброза печени у пациентов с вирусным и алкогольным генезом хронического гепатита. При этом комбинация сывороточных маркеров и гемодинамических характеристик у лиц с неалкогольной жировой болезнью печени неинформативна в оценке выраженности гепатофиброза.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. При хронических гепатитах различного генеза процесс фиброза имеет свои особенности, включая лабораторные и инструментальные характеристики.
2. Существуют факторы, влияющие на процесс фиброгенеза и характер прогрессирования хронических гепатитов, что напрямую зависит от этиологии заболевания.
3. Для оценки степени фиброза печени у лиц с хроническими вирусными гепатитами и алкогольным поражением печени могут быть успешно использованы математические модели без применения инвазивных методик.

### **Внедрение в практику**

Результаты работы внедрены в практику амбулаторно-поликлинического отделения ООО «Альфа-центр Здоровья», гастроэнтерологического отделения Пермской краевой клинической больницы «Ордена «Знак Почета», а также используются в учебном процессе на кафедре госпитальной терапии ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е.А. Вагнера» Минздрава России.

### **Связь работы с научными программами**

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом НИР ГБОУ ВПО «ПГМА им. ак. Е.А.Вагнера» Минздрава России, номер государственной регистрации 01200305520.

Исследование проведено с использованием средств гранта «У.М.Н.И.К-2012», предоставленного Фондом содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере при Правительстве Российской Федерации.

### **Личный вклад автора**

Автором самостоятельно произведен литературный поиск и анализ публикаций по теме диссертации, разработан дизайн исследования, определены критерии включения и исключения. Были выбраны лабораторные маркеры и ультразвуковые характеристики гемодинамики с целью описания особенностей гепатофиброза в обследуемых группах больных. Сбор анамнеза, объективный осмотр и принятие решения о включении пациента в исследование, а также последующая статистическая обработка данных проведены автором лично.

### **Апробация работы и публикации**

Выводы и результаты исследования доложены на девятой Северо-Западной научной гастроэнтерологической сессии (Санкт-Петербург, 2012), XVIII российском конгрессе «Гепатология сегодня» (Москва, 2013), Международной научной конференции «Family Health in the XXI Century», (Лиссабон, Португалия, 2013), научной сессии молодых ученых ПГМА им. Е.А. Вагнера «Навстречу 100-летию высшего медицинского образования на Урале» (Пермь, 2014). По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, в том числе 3 – в рекомендуемых ВАК изданиях. Получена приоритетная справка на изобретение «Способ диагностики стадии фиброза печени у пациентов с хроническим вирусным гепатитом» № 2014-112-144 от 28.03.2014.

Апробация работы проведена на совместном межкафедральном заседании кафедр госпитальной терапии, факультетской терапии №2, эндокринологии и клинической фармакологии, пропедевтики внутренних болезней №2 ГБОУ ВПО «ПГМА им. ак. Е.А.Вагнера» Минздрава России (протокол заседания №2 от 06 мая 2014 года).

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация представляет собой рукопись на русском языке объемом 173 страницы машинописного текста, состоит из введения, четырех глав, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, содержащего 218 источников, из которых 55 отечественных и 163 зарубежных. Работа иллюстрирована 42 таблицами и 69 рисунками.

Получено разрешение этического комитета академии на проведение научного исследования с участием человека.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы, методы и дизайн исследования

В исследование были включены 76 человек. Пациенты проходили обследование в Пермской краевой клинической больнице (гастроэнтерологическое, эндокринологическое и кардиологическое отделения) и Пермской краевой инфекционной больнице (Пермский краевой гепатологический центр, руководитель - заслуженный врач России, к.м.н. Р.Б. Гальбрайх). По этиологическому принципу все пациенты были разделены на три группы: хронический вирусный гепатит, алкогольная болезнь печени (вариант хронического гепатита), неалкогольный стеатогепатит. Дизайн исследования изображен на рисунке 1. Общая характеристика изучаемых групп представлена в таблице 1.



Рисунок 1 – Дизайн исследования

Таблица 1 - Характеристика исследуемых групп

<b>Характеристика</b>	<b>ХВГ</b>	<b>АБП</b>	<b>НАЖБП</b>
Возраст, лет	39,8±10,8	48,5±12,2	47,4±11,0
Количество пациентов, n	20	20	36
Мужчины, n (%)	9 (45%)	10 (50%)	22 (61%)
Женщины, n (%)	11 (55%)	10 (50%)	14 (39%)
Масса тела, кг	70,9±11,6	76,2±17,6	92,3±17,7
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	24,2±3,5	27,2±5,4	31,5±5,5

В первую группу вошли 20 пациентов с ХГ вирусной этиологии, в том числе 9 (45%) мужчин и 11 (55%) женщин в возрасте от 26 до 59 лет (средний возраст 39,8±10,8 лет). 12 пациентов (60%) были инфицированы вирусом гепатита С, 8 человек (40%) – вирусом гепатита В. Диагноз вирусного гепатита был подтвержден обнаружением ДНК или РНК возбудителя в сыворотке больного методом полимеразной цепной реакции. В исследование не включались пациенты, получавшие когда-либо противовирусную терапию, чтобы исключить ее влияние на изучаемые параметры.

В группу с АБП включено 20 человек, среди них было 10 мужчин (50%) и 10 женщин (50%) в возрасте от 20 до 71 года, средний возраст составил 48,5±12,2 лет. Алкогольная этиология ХГ подтверждалась с помощью данных анамнеза (признание пациентом факта злоупотребления алкоголем), результатов тестирования по опроснику CAGE, а также косвенных объективных и лабораторных признаков хронической алкогольной интоксикации. При опросе уточнялся объем, крепость и частота употребления алкогольного напитка, на основании чего оценивалась средняя ежедневная доза этанола. Токсической дозой считалось употребление более 50 г этанола в сутки для мужчин и более 30 г в сутки - для женщин (Павлов А.И., Хазанов А.И., 2010; Хазанов А.И., Плюсин С.В., Белякин С.А., 2009).

Третью группу составили 36 человек с НАЖБП, в том числе 22 мужчины (61%) и 14 женщин (39%) в возрасте от 22 до 67 лет. Средний возраст пациентов составил 47,4±11,0 лет. В эту группу включались пациенты с избыточной массой тела или ожирением (индекс массы тела (ИМТ) более 25 или окружность талии более 94 см у мужчин и более 80 см у женщин), имеющие синдром цитолиза, признаки стеатоза печени по данным ультразвукового исследования, а также не менее чем два из нижеследующих критериев (Буторова Л.И., 2012; Ивашкин В.Т., Драпкина О.М., Шульпекова Ю.О., 2009):

- нарушение обмена углеводов: сахарный диабет 2 типа, нарушение толерантности к глюкозе или нарушенная гликемия натощак;
- увеличение сывороточной концентрации триглицеридов более 1,7 ммоль/л;

- увеличение сывороточной концентрации липопротеинов низкой плотности более 3,0 ммоль/л;
- снижение концентрации липопротеинов высокой плотности менее 1,0 ммоль/л у мужчин и менее 1,2 ммоль/л у женщин;
- установленный диагноз артериальной гипертензии.

Пациент не участвовал в исследовании при выявлении хотя бы одного из критериев исключения:

1. Фиброзирующий процесс в других органах (в том числе пневмофиброз, постинфарктный кардиосклероз и др).
2. Злокачественные новообразования.
3. Аутоиммунные заболевания.
4. Острое воспаление или оперативное вмешательство в предшествующий месяц.
5. Хронические сопутствующие заболевания в стадии обострения или декомпенсации.
6. Хроническая сердечная недостаточность III-IV стадии.
7. Беременность.
8. Спленэктомия в анамнезе.
9. Операции на сосудах брюшной полости в анамнезе.
10. Очаговые образования печени.
11. Гепатотропная терапия в предшествующие три месяца.

Для группы хронических вирусных гепатитов также:

12. Проводимая ранее противовирусная терапия.
13. Явления стеатоза печени по данным УЗИ.

Одной из задач нашего исследования было описать особенности фиброза печени при ХГ различной этиологии, используя биохимические тесты и ультразвуковые характеристики гемодинамики в сосудах брюшной полости.

Среди множества лабораторных тестов были выбраны альфа-2-макроглобулин, аполипопротеин А1 и гаптоглобин. Альфа-2-макроглобулин участвует в воспалительных реакциях и его повышенная концентрация у пациентов с ХГ объясняется, по-видимому, усиленным синтезом звездчатыми клетками печени (Галимова С.Ф., Надинская М.Ю., Маевская М.В., 2001; Cales P., Oberti F., Michalak S., 2005). Основным местом синтеза аполипопротеина А1 и гаптоглобина является печень, поэтому при нарастании фиброза ожидается снижение данных показателей (Atta M., Cabral M., Santos G., 2012; Zhang A., Sun

Н., Sun W., 2013). Хотя данные биохимические маркеры используются в Фибротесте (Halfon P., Munteanu M., Roynard T., 2008), их зависимость от фибропроцесса при различных этиологических формах ХГ изучена недостаточно. Опубликованы единичные работы, посвященные этому вопросу.

В нашем исследовании концентрации описанных белков определялись методом иммуноферментного анализа. Использовались реактивы производителей Immundiagnostik, Германия (альфа-2-макроглобулин) и AssayPro, США (аполипопротеин А1 и гаптоглобин). Концентрации указанных маркеров выражались в единицах «г/л». Исследование проводилось в лаборатории «Философия красоты и здоровья» одним и тем же врачом-лаборантом с использованием анализатора Stat Fax 2100 (Awareness Technology, США). Забор крови производился в утренние часы натощак.

Известны способы оценки фиброза печени, основанные на измерении характеристик кровотока в сосудах брюшной полости с помощью дуплексного сканирования (Lutz H.H., Gassler N., Tischendorf F.W., 2012; Rocha H.L., Diniz A.L., Borges V.F., 2012). В частности, отдельные публикации сообщают о высокой информативности индекса пульсации селезеночной артерии у пациентов с вирусными гепатитами (Liu C.H., Hsu S.J., Lin J.W., 2007). Но данная методика не изучена при ХГ другой этиологии.

В нашей работе исследовались скоростные характеристики кровотока в печеночной и селезеночной артерии: максимальная систолическая (МСС, см/сек), конечно-диастолическая (КДС, см/сек) и средняя скорости (ССК, см/сек), а также скорость кровотока в воротной вене (ВВ, см/сек) и диаметры селезеночной и воротной вен (мм). Рассчитывались индекс пульсации и индекс резистентности для упомянутых артерий. Ультразвуковое исследование сосудов брюшной полости проводилось в отделении ультразвуковой диагностики поликлиники Пермской краевой клинической больницы (зав. отделением И.Е. Китаева). Диагностическую процедуру выполнял один и тот же врач с помощью ультразвукового сканера Philips Envisor С HD (Philips, Нидерланды). Применялся конвексный электронный датчик с частотой 3,5 МГц с использованием цветного доплеровского картирования. Ультразвуковое исследование выполнялось натощак при задержке дыхания на полу-вдохе. Аппарат автоматически определял скоростные характеристики кровотока за 3-4 сердечных цикла.

В качестве референсного метода диагностики фиброза печени была использована ультразвуковая эластография (УЗЭ). Данное исследование проводилось в Пермской краевой инфекционной больнице (зам.гл.врача Л.М. Наумова). Диагностическую манипуляцию проводил обученный специалист с помощью аппарата Fibroscan 502 (Echosens, Франция).

Выбор данной методики связан со следующими обстоятельствами. УЗЭ применяется в клинической практике более десяти лет. За это время опубликовано большое количество исследований, включая несколько мета-анализов, демонстрирующих высокую точность метода в оценке стадии фиброза при различных этиологических вариантах ХГ (Shaheen A.A., Wan A.F., Myers R.P., 2007; Sporea I., Gilja O.H., Bota S., 2013).

Статистическая обработка полученных данных проводилась на персональном компьютере Intel Pentium Core2 Duo с использованием программного пакета Statistica 6.1. Для изучения характера распределения данных применялся критерий Колмогорова-Смирнова. При нормальном распределении были использованы параметрические методы статистической обработки. Данные описывались с помощью среднего и стандартного отклонения ( $\mu \pm \sigma$ ). Корреляционный анализ проводился с вычислением линейного коэффициента корреляции Пирсона (Pearson), обозначаемого «r». В случаях, когда распределение оказывалось отличным от нормального, данные описывались с помощью медианы (Me) и интерквартильного размаха (25-ый и 75-ый процентиля). Характер и сила взаимосвязи переменных в этом случае оценивались с применением коэффициента ранговой корреляции Спирмена (Spearman), обозначаемого «r<sub>s</sub>». Для сравнения двух групп применялся U-критерий Манна-Уитни (Mann-Whitney). Метод множественной регрессии был использован для вычисления уравнений, позволяющих рассчитать прогнозируемое значение плотности печени по биохимическим и инструментальным показателям. Статистическая значимость уравнения регрессии оценивалась по критерию Фишера. Нулевая гипотеза отвергалась при уровне статистической значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В группе ХВГ были выявленные следующие особенности. Жалобы, которые можно было отнести к клиническим проявлениям заболевания, пациенты предъявляли лишь в половине случаев. При этом доминировал болевой абдоминальный синдром в области правого подреберья (50%) и синдром желудочно-билиарной диспепсии (отрыжка горечью - 45%, тошнота - 25%). У 20% пациентов была выявлена умеренная гепатомегалия. Хотя средние значения ИМТ у больных данной группы были в пределах нормы, было замечено, что у лиц с тяжелым фиброзом (F4) ИМТ был относительно более высокий, чем у пациентов с иными стадиями фиброза. Также была выявлена прямая умеренной силы статистически значимая взаимосвязь между величиной массы тела пациента и выраженностью фиброза печени ( $r=0,55$ ,  $p=0,024$ ).

В данной группе больных по данным УЗЭ преобладали лица с фиброзом F0 (40%) и F3 (25%). При этом было отмечено, что по мере увеличения стадии фибропроцесса, активность цитолиза была выше. Данное наблюдение получило подтверждение и с помощью методов математической статистики. Так значения трансаминаз (АЛТ, АСТ) и эластичность печеночной ткани демонстрировали положительную корреляционную связь умеренной силы:  $r=0,52$  ( $p=0,027$ ),  $r=0,55$  ( $p=0,018$ ), соответственно. Наблюдаемое повышение данных показателей при усугублении фиброза является отражением возрастающего повреждения паренхимы печени по мере прогрессирования болезни.

У пациентов с ХВГ из трех биохимических маркеров взаимосвязь с выраженностью гепатофиброза выявлена только для альфа-2-макроглобулина. Его среднее значение в группе лишь незначительно превышало уровень у здоровых лиц ( $3,29 \pm 0,87$  г/л против 3,0 г/л). При этом данный маркер был повышен у пациентов со второй и более стадией фиброза (F2-F4), в то время как на ранних этапах фибропроцесса (F0-F1) его концентрация была в рамках нормальных значений. Наблюдаемые тенденции согласуются с теоретическими данными (Галимова С.Ф., Надинская М.Ю., Маевская М.В., 2001; Cales P., Oberti F., Michalak S., 2005). Корреляция альфа-2-макроглобулина с эластичностью печеночной ткани составила  $r=0,51$  ( $p=0,050$ ), а в подгруппе с фиброзом F1-F4 –  $r=0,77$  ( $p=0,026$ ). Более того, выявлено достоверное увеличение уровня данного маркера в группе ХВГ при сопоставлении с другими этиологическими формами ХГ ( $p=0,006$ ).

Значения аполипопротеина А1 и гаптоглобина у данной категории больных не отличались от референсных значений и не продемонстрировали взаимосвязи с фиброзом печени.

При изучении гемодинамических характеристик сосудов брюшной полости были получены разноречивые данные. К сожалению, скоростные параметры кровотока в печеночной и селезеночной артериях, а также специальные индексы, описывающие функционирование изучаемых сосудов, оказались неинформативны в оценке фибропроцесса у лиц с ХВГ, что, по-видимому, свидетельствует о позднем развитии гемодинамических нарушений в артериальном русле у данной категории пациентов.

В то же время, выявлена тенденция к увеличению диаметров селезеночной и воротной вен при нарастании стадии фиброза. При этом установлено, что значения диаметра селезеночной вены (СВ) и плотности печени имеют достоверную положительную корреляцию:  $r=0,48$  ( $p=0,044$ ). Данные факты позволяют предположить, что явления портальной гипертензии у пациентов с ХВГ выражаются, прежде всего, изменениями в венозной системе печени. Эти наблюдения согласуются и результатами других

исследований, в которых описано увеличение диаметров СВ и ВВ при прогрессировании фиброза у пациентов с вирусной этиологией ХГ (Пирогова И.Ю., 2012).

Среди пациентов группы АБП какие-либо жалобы отмечались в 75% случаев. При этом доминировал абдоминальный болевой синдром (70%), астения (65%) и разнообразные диспепсические явления (отрыжка – 45%, тошнота – 20%). В 45% случаев была выявлена гепатомегалия, в 20% – желтуха различной степени выраженности. Средний ИМТ в данной группе составил  $27,2 \pm 5,4$  кг/м<sup>2</sup>, что соответствует избыточной массе тела. При этом не было выявлено зависимости ИМТ и массы тела от выраженности гепатофиброза.

По результатам УЗЭ пациенты в соответствии со стадией фиброза распределились следующим образом: F0 – 30%, F1 – 20%, F2 – 25%, F3 – 15%, F4 – 10%. Следует обратить внимание на особенность фибропроцесса при алкогольной этиологии ХГ, заключающуюся в существенно более высоких значениях плотности печени при фиброзе четвертой стадии (F4). Также наблюдался параллельный рост концентрации АЛТ и АСТ при усилении выраженности гепатофиброза. При этом уровень АСТ был достоверно выше в группе АБП при любой стадии фиброза ( $p < 0,05$ ), а величины АЛТ – при стадиях F2 и F3 ( $p < 0,05$ ).

Содержание альфа-2-макроглобулина в среднем в группе было нормальным:  $2,77 \pm 0,56$  г/л. При этом было отмечено, что значение данного маркера возрастает по мере увеличения эластичности печеночной ткани и достигает максимума при фиброзе F4. Причем, взаимосвязь альфа-2-макробулина и плотности печени была статистически достоверной:  $r = 0,57$  ( $p = 0,029$ ). Концентрация аполипопротеина А1 в группе пациентов с АБП незначительно превышала норму и равнялась  $2,28 \pm 1,58$  г/л. Наблюдаемая тенденция к увеличению этого показателя параллельно с нарастанием плотности печеночной ткани находит отражение в корреляционном анализе:  $r = 0,51$  ( $p = 0,045$ ). Полученные результаты отчасти противоречат теоретическим данным, поскольку известно, что концентрация аполипопротеина А1 имеет обратную зависимость от стадии фиброза при ХГ. Объяснить это противоречие мы можем явлением стеатоза печени – неотъемлемым морфологическим атрибутом АБП. Опубликованы исследования, подтверждающие положительную взаимосвязь выраженности стеатоза и уровня аполипопротеина А1 у данной категории больных (Naveau S., Thaury J., Barri-Ova N., 2009). Концентрация гаптоглобина в группе АБП оставалась в пределах нормы и не зависела от стадии фиброза.

Установлено, что при ХГ алкогольной этиологии изменения гемодинамики в сосудах брюшной полости как отражение фиброзирующего процесса в печени наиболее убедительны. Так, обнаружено, что нарастание стадии фиброза сопровождается увеличением скоростных характеристик гемодинамики в селезеночной артерии при одновременном

замедлении кровотока в печеночной артерии и воротной вене. При этом МСС, ССК и КДС в селезеночной артерии продемонстрировали статистически достоверную зависимость от эластичности печеночной ткани. Для МСС корреляция составила  $r=0,53$  ( $p=0,043$ ), для ССК и КДС в подгруппе F1-F4 –  $r=0,80$  ( $p=0,010$ ) в обоих случаях. Особенностью фиброза печени при алкогольном поражении является отложение значительного количества фибриллярных белков вокруг центральной вены печеночной доли. Этот феномен перивенулярного фиброза увеличивает сосудистое сопротивление току крови и способствует более раннему развитию синдрома портальной гипертензии (Огурцов П.П., 2005; Хазанов А.И., Плюснин С.В., Белякин С.А., 2009). Именно этим обстоятельством можно объяснить столь выраженные изменения кровотока в группе АБП. В этой связи изучение гемодинамических нарушений у данной категории больных представляется перспективным направлением в развитии неинвазивной диагностики печеночного фиброза.

Клиническая картина в группе НАЖБП отличалась небольшим числом жалоб пациентов, среди которых чаще всего отмечались абдоминальный болевой синдром (42%), астения (39%) и синдром желудочно-билиарной диспепсии (36%). Лишь у 14% выявлялась гепатомегалия. Средняя масса тела пациентов составила  $92,2 \pm 17,7$  кг, причем данный показатель убедительно коррелировал со степенью плотности печени:  $r=0,38$  ( $p=0,032$ ). ИМТ в среднем равнялся  $31,5 \pm 5,5$  кг/м<sup>2</sup>, что соответствовало ожирению 1 степени.

По результатам УЗЭ в группе преобладали пациенты с фиброзом F0 (31%) и F4 (19%). На стадиях F1, F2 и F3 приходилось, соответственно, 17%, 19% и 14% больных. Взаимосвязь АЛТ и АСТ с эластичностью печени была различной. АЛТ демонстрировала тенденцию к повышению концентрации при увеличении стадии фиброза, что подтвердилось обнаружением слабой, но статистически достоверной, корреляции:  $r_s=0,41$  ( $p<0,05$ ). В то же время уровень АСТ не зависел от выраженности фибропроцесса и не коррелировал с данными УЗЭ.

Среднее содержание альфа-2-макроглобулина в группе находилось в пределах референсных значений и составляло  $2,49 \pm 0,63$  г/л. Наблюдаемая тенденция к повышению его концентрации по мере увеличения плотности печени подкреплялась данными корреляционного анализа:  $r=0,41$  ( $p=0,027$ ). Аполипротеин А1 в среднем также не выходил за рамки нормы и составлял  $1,76 \pm 1,45$  г/л. При этом данный показатель повышался при усилении фиброза. Корреляция этого маркера с эластичностью печеночной ткани была слабой, но статистически достоверной:  $r=0,37$  ( $p=0,040$ ). Наблюдаемая положительная взаимосвязь аполипротеина А1 и гепатофиброза у данной категории больных расходится с теоретическими данными, что, как и в случае с АБП, можно объяснить явлением стеатоза

печени. В литературе описана ассоциация апополипротеина А1 и явлений стеатоза печени при ожирении (Pozzato C., Verduci E., Scaglioni S., 2010). Уровень гаптоглобина не отличался от нормальных значений и не проявил взаимосвязи с фиброзом печени.

Данные дуплексного сканирования оказались неинформативны в оценке фиброза печени у пациентов с НАЖБП. При изучении характеристик гемодинамики отмечена лишь тенденция к замедлению кровотока в воротной вене. Однако ни для одного ультразвукового показателя не удалось получить статистически значимую взаимосвязь с эластичностью печеночной ткани. На основании этого можно сделать вывод, что при данном этиологическом варианте ХГ процесс фиброгенеза в печени не сопровождается выраженными изменениями гемодинамики в сосудах брюшной полости.

Для каждого этиологического варианта ХГ определен ряд показателей, ассоциированных с выраженностью фиброза печени. При этом ни один из них в отдельности не обладал достаточной диагностической точностью для того, чтобы использоваться в качестве способа оценки фибропроцесса. Мы предположили, что комбинированный индекс, основанный на сочетании нескольких параметров, будет иметь более высокую диагностическую значимость. Такой индекс должен учитывать то, что сила взаимосвязи изучаемых показателей с плотностью печеночной ткани неодинакова. Чтобы учесть это обстоятельство, был использован метод множественной регрессии. Данный инструмент математической статистики позволяет рассчитать уравнение регрессии, в котором вклад каждого из показателей в итоговое значение индекса выражается специальным коэффициентом.

При расчете уравнений регрессии в качестве зависимой переменной выступала плотность печеночной ткани по данным УЗЭ, а в качестве предикторов (независимых переменных) – ассоциированные с фиброзом биохимические, ультразвуковые и антропометрические параметры. Поскольку индекс может учитывать различное число предикторов в разных сочетаниях, возникла задача определения числа возможных комбинаций. Эта задача была решена с привлечением методов комбинаторики, и в каждой из групп было рассчитано количество всевозможных комбинаций переменных.

Так, в группе ХВГ было выявлено пять параметров (в т.ч. лабораторных, инструментальных и антропометрических), взаимосвязанных с выраженностью гепатофиброза. Это были: альфа-2-макроглобулин, АЛТ, АСТ, диаметр селезеночной вены и масса тела. Поскольку индекс в данной ситуации может включать от двух до пяти параметров в различных комбинациях, было установлено, что при имеющихся условиях возможно 26 разных вариантов сочетания. Было рассчитано 26 уравнений множественной

регрессии. Из 26 уравнений только четыре обладали достаточным уровнем статистической достоверности. У четырех индексов фиброза, рассчитываемых по этим уравнениям, была исследована способность дифференцировать стадии фиброза. С этой целью с помощью критерия Манна-Уитни сравнивались подгруппы с различными стадиями фибропроцесса. Как оказалось, статистически достоверные различия между подгруппами были выявлены лишь для одного индекса, рассчитываемого по следующей формуле (1):

$$\text{ИФ} = -6,31 + 0,20 \times \text{АСТ} - 1,02 \times \text{ДСВ} + 0,24 \times \text{МТ}, \quad (1)$$

где ИФ – индекс фиброза;

АСТ – аспаргиновая аминотрансфераза сыворотки крови (Ед/л);

ДСВ – диаметр селезеночной вены (мм);

МТ – масса тела (кг).

Данный индекс позволяет дифференцировать начальный (F0-F1) и умеренный (F2-F4) фиброз ( $p=0,048$ ) (рисунок 2), а также умеренный (F0-F2) и выраженный (F3-F4) фиброз печени ( $p=0,026$ ) (рисунок 3).

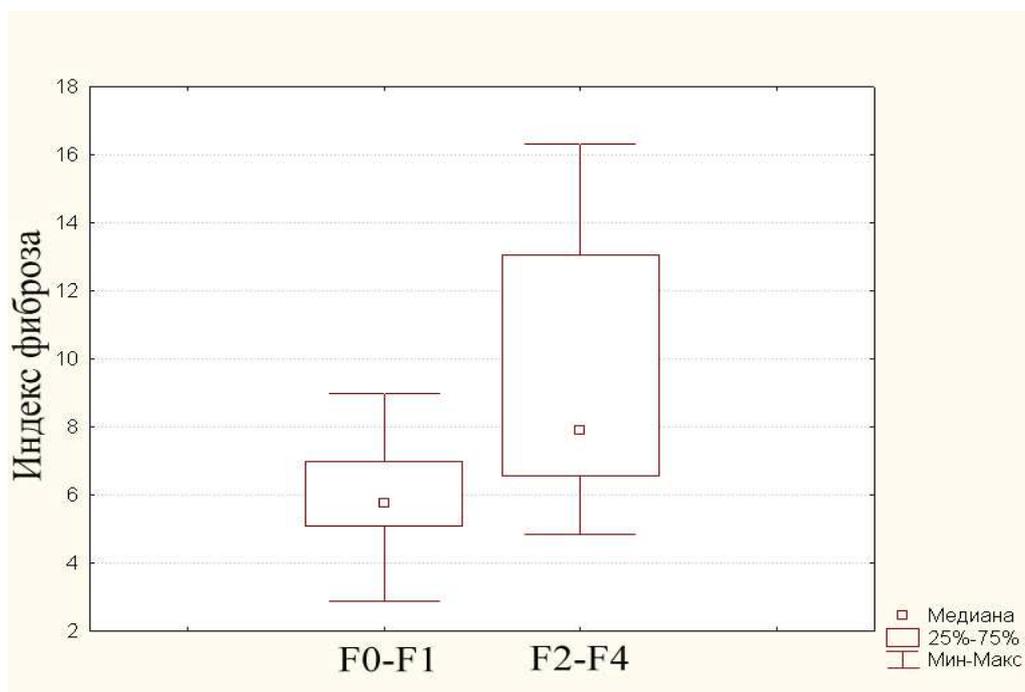


Рисунок 2 - Диаграмма размаха для ИФ, сравнение подгрупп с фиброзом F0-F1 и F2-F4 при ХВГ

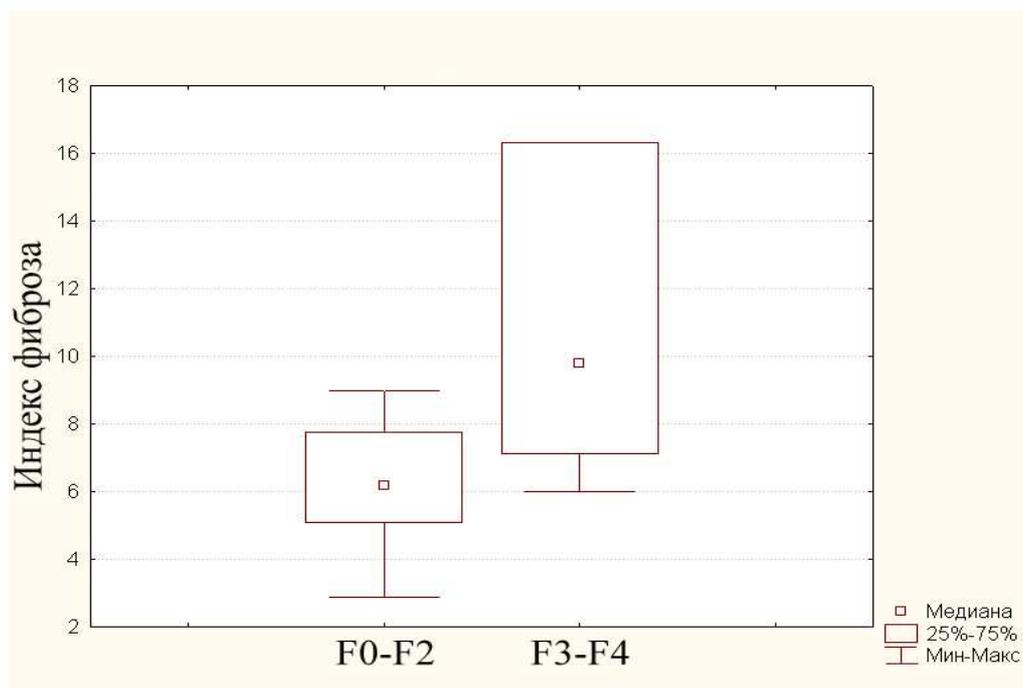


Рисунок 3 - Диаграмма размаха для ИФ, сравнение подгрупп с фиброзом F0-F2 и F3-F4 при ХВГ

В группе АБП с эластичностью печеночной ткани достоверно коррелировали два биохимических маркера: альфа-2-макроглобулин и аполипопротеин А1, а также три ультразвуковых параметра: МСС, ССК и КДС в селезеночной артерии. Количество разных сочетаний в данном случае также как и в группе ХВГ равнялось 26. Из этого числа статистической достоверностью обладали 12 уравнений. При сравнении подгрупп с разными стадиями фиброза при помощи критерия Манна-Уитни выяснилось, что только индекс, учитывающий все пять параметров, способен дифференцировать стадии фиброза. Данный индекс рассчитывается по формуле 2:

$$\text{ИФ} = -39,0 + 15,86 \times \text{А2МГ} + 5,16 \times \text{АпоА1} - 0,08 \times \text{МСС} - 1,25 \times \text{КДС} + 0,74 \times \text{ССК}, \quad (2)$$

где ИФ – индекс фиброза;

А2МГ – альфа-2-макроглобулин (г/л);

АпоА1 – аполипопротеин А1 (г/л);

МСС, КДС и ССК – максимальная систолическая, средняя и конечно-диастолическая скорости кровотока в селезеночной артерии (см/сек), соответственно.

Достоверные различия значений этого индекса выявлены при сравнении подгрупп с умеренным (F0-F2) и выраженным (F3-F4) фиброзом ( $p=0,042$ ) (рисунок 4).

Чувствительность и специфичность индекса в выявлении фиброза  $\geq F3$  были невелики и составили 43% и 50%, соответственно. Его положительное прогностическое значение равнялось 75% для фибропроцесса  $\geq F3$ , что при значении индекса 11,1 и более позволяет диагностировать выраженный фиброз.

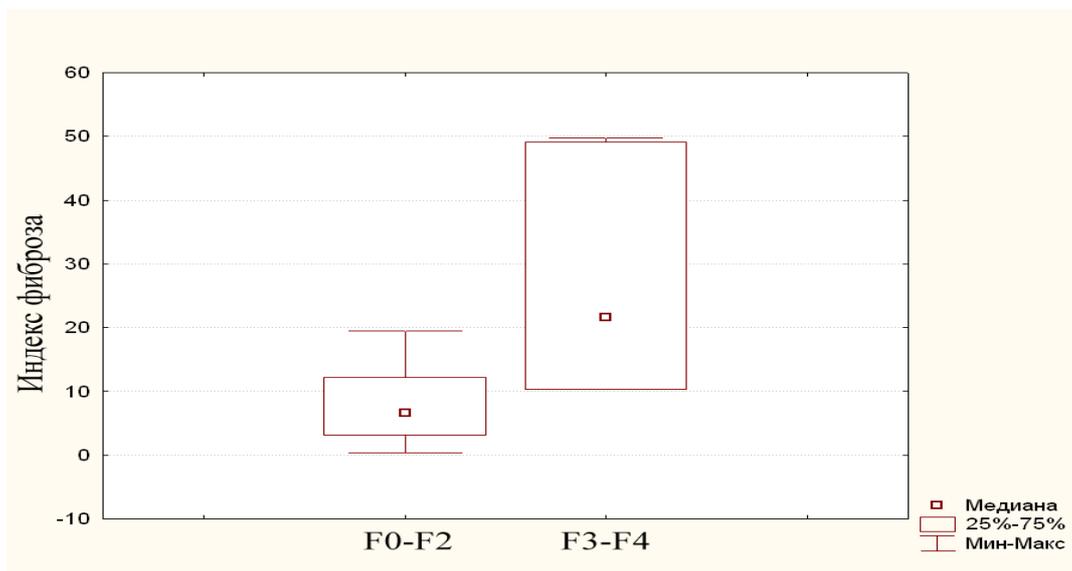


Рисунок 4 - Диаграмма размаха для ИФ, сравнение подгрупп с фиброзом F0-F2 и F3-F4 при АБП

В группе НАЖБП была установлена достоверная взаимосвязь выраженности фиброза печени и трех биохимических показателей: альфа-2-макроглобулин, аполипопротеин А1 и АЛТ, а также массы тела. Имея четыре переменные, можно получить 11 разных комбинаций. Из 11 уравнений регрессии статистически достоверным было лишь одно (формула 3):

$$\text{ИФ} = -7,62 + 5,97 \times \text{А2МГ} + 2,08 \times \text{АпоА1}, \quad (3)$$

где ИФ – индекс фиброза;

А2МГ – альфа-2-макроглобулин (г/л);

АпоА1 – аполипопротеин (г/л).

К сожалению, при сравнении подгрупп с различными стадиями фиброза не было получено достоверных различий по значению данного индекса, что свидетельствует о том, что изученные биохимические и ультразвуковые показатели не позволяют создать достаточно информативный комбинированный индекс фиброза в группе НАЖБП.

Таким образом, фиброз печени является общей морфологической основой и универсальным фактором прогрессирования ХГ любой этиологии. Но, в то же время, механизмы воздействия различных повреждающих агентов на печень неодинаковы, поэтому

для каждой этиологической формы ХГ существуют характерные особенности фиброгенеза, выражающиеся, в том числе, в изменениях биохимической картины крови и параметрах кровотока в гепатоассоциированных сосудах. Данные особенности имеют клиническое, диагностическое и прогностическое значение, поэтому их необходимо учитывать при описании фиброза у данной категории больных.

## ВЫВОДЫ

1. Фиброз печени как маркер прогрессирования хронических гепатитов имеет различные характеристики в зависимости от этиологии заболевания. При этом наибольшая выраженность данного процесса наблюдается у лиц с алкогольным поражением печени.
2. Оптимальной неинвазивной оценкой степени гепатофиброза у больных с хроническими вирусными гепатитами является определение уровня альфа-2-макроглобулина, аполипопротеина А1 и аланиновой аминотрансферазы в сыворотке крови, а также скоростные характеристики кровотока в печеночной артерии, диаметр селезеночной и печеночной вен.
3. Для изучения фиброза печени у лиц с хроническим гепатитом алкогольного генеза диагностическую ценность имеют наряду с величиной аланиновой аминотрансферазы уровень альфа-2-макроглобулина и аполипопротеина А1. При этом особую значимость представляют показатели кровотока в печеночной и селезеночной артериях, а также воротной вене.
4. Для больных с неалкогольной жировой болезнью печени комплекс неинвазивных методик для оценки гепатофиброза имеет самую низкую диагностическую ценность, но всё же значимыми являются: альфа-2-макроглобулин, аполипопротеин А1, уровень аланиновой аминотрансферазы и скорость кровотока в воротной вене
5. Во всех группах больных с хроническими гепатитами фактором прогрессирования фиброза печени была степень выраженности цитолитического синдрома, а для лиц с вирусным гепатитом и неалкогольной жировой болезнью - еще и избыточная масса тела пациента.
6. Для оценки стадии фиброза при хронических гепатитах различного генеза, за исключением неалкогольной жировой болезни печени, можно использовать математические модели, построенные на основе комбинаций лабораторных и инструментальных маркеров фибропроцесса.
7. Оценка выраженности фиброза печени с помощью комбинированных индексов требует обязательного учета этиологии хронического гепатита.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Диагностика фиброза печени является важным условием оценки прогрессирования хронических гепатитов и определения их прогноза, что требует обязательного проведения комплекса диагностических процедур, включая изучение сывороточной концентрации аланиновой аминотрансферазы, аспарагиновой аминотрансферазы и маркеров фиброза (в том числе - альфа-2-макроглобулина и аполипопротеина А1), а также гемодинамических показателей сосудов печени при условии невозможности проведения биопсии и ультразвуковой эластографии.
2. Характер фиброза зависит от генеза заболевания, в связи с этим диагностическая ценность маркеров будет различной при хронических гепатитах разной этиологии, что необходимо учитывать в реальной клинической практике.
3. Разработанные диагностические модели фиброза могут быть использованы в качестве скрининга для исключения выраженного фиброза у пациентов с хроническими гепатитами вирусной и алкогольной этиологии и определения показаний для углубленного обследования.

### Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Широких И.Н., Мавлитова Л.А., Туев А.В., Хлынова О.В. Диагностика фиброза печени: идеальны ли методы? // Пермский медицинский журнал. – 2013. – № 3. – С. 93–102.
2. Широких И.Н., Мавлитова Л.А., Хлынова О.В. Изучение взаимосвязи новых биохимических тестов с выраженностью фиброза печени у пациентов с хроническими гепатитами // Врач-аспирант. – 2014. – № 2. – С. 59.
3. Широких И.Н., Хлынова О.В., Василец Л.М. Комбинированный метод диагностики фиброза печени при хронических вирусных гепатитах // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – №1; URL: [www.science-education.ru/115-12257](http://www.science-education.ru/115-12257) (дата обращения: 04.03.2014).
4. Широких И.Н., Мавлитова Л.А., Хлынова О.В. Возможность неинвазивной диагностики фиброза печени у пациентов с диффузными заболеваниями печени // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2012. – № 4. – С. 44.
5. Широких И.Н., Мавлитова Л.А., Хлынова О.В. Комплексная оценка фиброза у пациентов с диффузными заболеваниями печени // Российский журнал

- гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. Приложение №40. Материалы XVIII Российского конгресса «Гепатология сегодня». – 2013. – С. 94.
6. Khlynova O., Mavlitova L., Shirokikh I., Kitaeva I. Characteristics of hepatic blood flow in chronic hepatitis of different genesis // Papers of the XVII International Scientific Conference «Family Health in the XXI Century» 27 April – 6 May 2013 Lisbon, Portugal. – P.299-300.
  7. Широких И.Н., Мавлитова Л.А. Оценка выраженности фиброза печени с использованием сывороточных маркеров // Материалы научной сессии Пермской государственной медицинской академии им. Е.А. Вагнера. – 2014. – С. 112.

#### **Список наиболее часто встречающихся в работе сокращений:**

А2МГ	альфа-2-макроглобулин
АБП	алкогольная болезнь печени
АпоА1	аполипопротеин А1
ВВ	воротная вена
ДСВ	диаметр селезеночной вены
ИМТ	индекс массы тела
ИФ	индекс фиброза
КДС	конечно-диастолическая скорость кровотока
МСС	максимальная систолическая скорость кровотока
МТ	масса тела
НАЖБП	неалкогольная жировая болезнь печени
СВ	селезеночная вена
ССК	средняя скорость кровотока
УЗЭ	ультразвуковая эластография
ХВГ	хронический вирусный гепатит
ХГ	хронический гепатит
ХГВ	хронический гепатит В
ХГС	хронический гепатит С
ЦП	цирроз печени