

А.Н. Сурков, И.Е. Смирнов, А.С. Потапов, А.Г. Кучеренко, Е.Л. Туманова

Научный центр здоровья детей РАМН, Москва

Особенности мониторинга фиброза и цирроза у детей с хроническими болезнями печени

Контактная информация:

Сурков Андрей Николаевич, врач-педиатр отделения восстановительного лечения детей с болезнями органов пищеварительной системы НИИ профилактической педиатрии и восстановительного лечения Научного центра здоровья детей РАМН

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2/62, тел.: (499) 134-15-82

Статья поступила: 15.01.2009 г., принята к печати: 09.03.2009 г.

Изучены возможности использования определения в сыворотке крови у детей с хроническими болезнями печени различной этиологии уровней гиалуроновой кислоты, коллагена IV типа, матриксной металлопротеиназы-2, тканевого ингибитора матриксных протеиназ-1 в диагностике степени фиброзирования печени. Установлено, что у детей с данной патологией концентрации этих соединений значительно повышаются при выраженных фибротических изменениях печеночной паренхимы. Гиалуроновая кислота, коллаген IV типа и матриксная металлопротеиназа-2 могут служить надежными неинвазивными маркерами цирроза и использоваться для мониторинга эффективности терапии при хронических болезнях печени у детей.

Ключевые слова: матриксная металлопротеиназа-2, тканевой ингибитор матриксных протеиназ-1, цирроз печени, маркеры, диагностика, дети.

31

Хроническая патология печени характеризуется тяжелым течением и приводит к существенному снижению качества жизни пациентов. Несмотря на множество патогенных факторов, поражающих печень (вирусы, аутоантитела, холестаза, метаболические нарушения и др.), этапы ее повреждения сопровождаются универсальными морфофункциональными нарушениями. Ключевая роль в инициации фиброза принадлежит звездчатым клеткам печени, которые под действием триггеров фиброгенеза проходят несколько стадий трансдифференциации, секретируют различные цито- и хемокины (например, ростовые факторы, эндотелин-1) и активно продуцируют компоненты экстрацеллюлярного матрикса (гиалуроновая кислота, коллагены I, III и IV типов, ламинин, тенасцин и др.). В результате происходит избыточное развитие

фиброзной ткани в печени, что приводит к нарушению архитектоники органа и снижению его функций [1, 2]. При прогрессировании болезни развивается цирроз, приводящий к инвалидизации детей и повышению риска летального исхода.

Пункционная биопсия печени является классическим методом определения стадии фиброирования у детей с хроническими болезнями печени (ХБП). Морфологическое исследование полученного материала позволяет осуществлять мониторинг и с помощью различных количественных индексов оценивать степень воспалительной активности и стадию фиброза (Knodell, Ishak, Desmet, METAVIR) [3, 4]. Однако, пункционная биопсия печени является трудоемким методом и не всегда безопасным для пациента. Кроме того, существует риск полу-

A.N. Surkov, I.Ye. Smirnov, A.S. Potapov, A.G. Kucherenko, Ye.L. Tumanova

Scientific Center of Children's Health, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Peculiarities of the fibrosis and cirrhosis monitoring among children with chronic liver diseases

The researchers examined the opportunities to use determination in the serum among children with chronic liver diseases of various etiologies of the hyaluronic acid levels, collagen type IV, matrix metalloproteinase-2, tissue inhibitor of the matrix proteinases-1 in diagnostics of the liver fibrosis degree. They have found out that children with the given pathology show significantly growing concentrations of these compounds against marked fibrotic changes in the liver parenchyma. Hyaluronic acid, collagen type IV and matrix metalloproteinase-2 may be reliable noninvasive cirrhosis markers and used to monitor the efficiency of therapy for the chronic liver diseases among children.

Key words: matrix metalloproteinase-2, tissular inhibitor of the matrix proteinases-1, liver cirrhosis, markers, diagnostics, children.

чения неинформативного биоптата. С помощью неинвазивных методов визуализации (ультразвуковое исследование, компьютерная и магнитно-резонансная томография) невозможно различить промежуточные стадии фиброзирования, а также не всегда удается выявить признаки цирроза, поэтому с целью усовершенствования методов мониторингирования функционального состояния печени в настоящее время активно ведется поиск «неинвазивных» маркеров печеночного фиброза [3–5].

В последние годы интенсивно исследуются изменения концентраций серологических показателей у больных с хроническими вирусными гепатитами и алкогольной болезнью печени в зависимости от стадии фиброза печени. Среди них наиболее изученными являются гиалуроновая кислота (ГК), коллаген IV типа, матриксные металлопротеиназы (ММП) и их тканевые ингибиторы (ТИМП) [6–9]. В педиатрической практике такие исследования проводятся в меньшей степени. В доступной литературе нами не были обнаружены данные о динамике концентраций сывороточных маркеров фиброзирования у детей с аутоиммунным гепатитом, болезнью Вильсона, гликогенозами, первичным склерозирующим холангитом. Поэтому целью нашей работы явилось изучение диагностической значимости определения в сыворотке крови у детей с ХБП различной этиологии уровней ГК, коллагена IV типа, ММП-2 и ТИМП-1 для разграничения различных стадий фиброза печени.

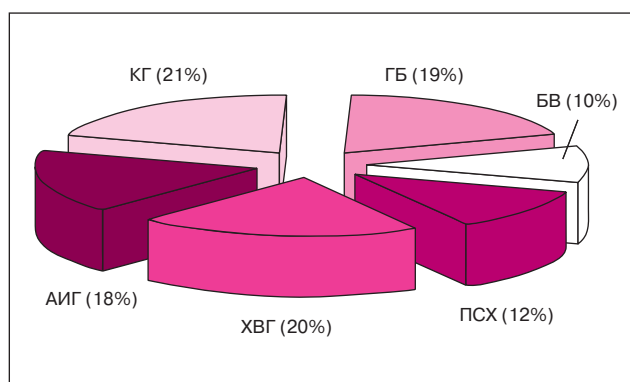
ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 68 детей в возрасте от 2 до 17 лет (средний возраст составил $11,6 \pm 5,1$ лет) с ХБП, из них с хроническими вирусными гепатитами В и С — 14 человек, с аутоиммунным гепатитом — 12, с криптогенным гепатитом — 14, с гликогеновой болезнью — 13, с болезнью Вильсона — 7, с первичным склерозирующим холангитом — 8 детей (рис. 1).

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости, лабораторные и инструментальные исследования с определением клинических, биохимических, иммунологических и вирусологических показателей были проведены всем пациентам. Некоторым больным потребовалось проведение дополнительных исследований: радионуклидной скинтиграфии печени, компьютерной и магниторезонансной томографии органов брюшной полости, ДНК-диагностики наследственной патологии. Для определения степени фиброзирования печени в сыворотке крови у всех детей иммуноферментным методом с помощью специальных наборов реагентов определяли концентрации ГК, коллагена IV типа, ММП-2 и ТИМП-1.

Всем пациентам была проведена пункционная биопсия печени с применением иглы Менгини. Для морфологического исследования образцы ткани фиксировали в 10%-ном нейтральном растворе формалина, заливали в парафин по общепринятой методике с последующим приготавливанием серийных ультратонких срезов. С целью диф-

Рис. 1. Частота регистрации различных нозологических форм хронических болезней печени у пациентов ($n = 68$)



Примечание.

КГ — криптогенный гепатит; АИГ — аутоиммунный гепатит; ХВГ — хронический вирусный гепатит; ПСХ — первичный склерозирующий холангит; БВ — болезнь Вильсона; ГБ — гликогеновая болезнь.

ференцировки структуры ткани использовали окраску гематоксилином и эозином, выявление коллагеновых волокон проводили пикрофуксином по методу Ван-Гизона. Включения меди определяли при помощи окраски рубеоановой кислотой. Идентификацию гликопротеиновых структур осуществляли с применением ШИК-реакции и последующим контролем амилазой. Морфологическое исследование каждого биоптата печени проводилось одним патоморфологом с использованием полуколичественного метода оценки в баллах (табл. 1) выраженности фиброза или стадии процесса (гистологический индекс склероза — ГИС), а также активности гепатита (индекс гистологической активности — ИГА) по шкале R.G. Knodell и др. (1981) [3, 4].

В зависимости от стадии фиброзирования проводили распределение обследованных детей с ХБП на группы: без фибротических изменений в ткани печени (ГИС = 0 баллов); со слабым фиброзом в виде склерозирования и расширения портальных трактов (ГИС = 1 балл); с тяжелым фиброзом в виде формирования порто-портальных и порто-центральных соединительнотканых септ (ГИС = 3 балла) и с циррозом (ГИС = 4 балла). Для удобства изложения материала этим группам были присвоены дополнительные обозначения: F0, F1, F3 и F4, соответственно.

В зависимости от степени активности хронического гепатита распределение детей с ХБП проведено следующим образом: минимальная (ИГА = 1–3 балла), слабая (ИГА = 4–8 баллов), умеренная (ИГА = 9–12 баллов), высокая (ИГА = 13–18 баллов).

Все полученные данные обработаны с использованием пакета прикладных программ «Statistica-6.0».

Таблица 1. Гистологический индекс склероза при определении стадии хронического гепатита

Баллы	Условное обозначение	Степень склероза	Характер фиброза по R.G. Knodell и соавт. (1981)
0	F0	Склероз отсутствует	А. Склероз отсутствует
1	F1	Слабый	В. Склероз и расширение портальных трактов
2	F2	Умеренный	—
3	F3	Тяжелый	С. Порто-портальные и/или порто-центральные септы
4	F4	Цирроз	Д. Цирроз

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам обследования, группу F0 составило 6 детей, группу F1 — 21 ребенок, группу F3 — 28 больных, группу F4 — 13 пациентов (рис. 2).

Минимальная степень активности хронического гепатита выявлена у 29 пациентов с ХБП, слабая — у 17, умеренная — у 7 детей. Воспалительные изменения отсутствовали у 15 человек. Ни у одного из обследованных пациентов не зарегистрирована высокая степень активности процесса (рис. 3).

При сопоставлении ГИС и ИГА у детей группы F1 чаще определялась минимальная степень активности процесса, F3 — минимальная и слабая. У детей из группы F4 — минимальная, слабая и умеренная степень активности гепатита

отмечалась с одинаковой частотой. Отсутствие воспалительных изменений чаще встречалось у пациентов группы F3 и группы F0, в меньшей степени — у детей группы F1, а у детей группы F4 были обнаружены признаки хронического гепатита (табл. 2).

При сопоставлении ГИС и средних концентраций ГК, коллагена IV типа, ММП-2 и ТИМП-1 в сыворотке крови детей с ХБП были выявлены достоверные различия ($p < 0,01$) между серологическими уровнями ГК, коллагена IV типа и ММП-2 у пациентов с морфологической стадией фиброза F4 и F0. Значимых изменений сывороточных концентраций ТИМП-1 в зависимости от ГИС не было выявлено (табл. 3; рис. 4).

При сопоставлении ИГА и средних концентраций ГК, коллагена IV типа, ММП-2 и ТИМП-1 в сыворотке крови детей с

Рис. 2. Частота регистрации различных стадий фиброза печени у пациентов с хроническими болезнями печени по шкале R.G. Knodell и соавт. ($n = 68$)

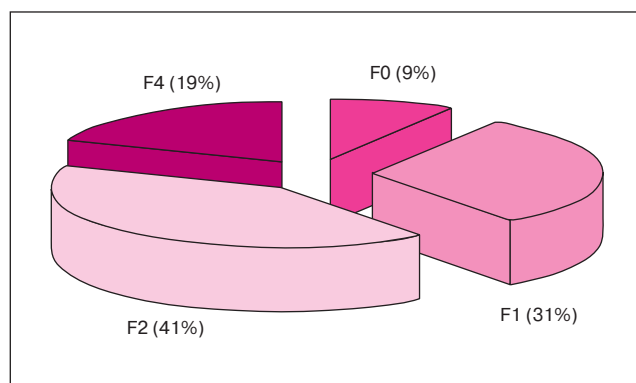


Рис. 3. Частота регистрации различных степеней воспаления у пациентов с хроническими болезнями печени по шкале R.G. Knodell и соавт. ($n = 68$)

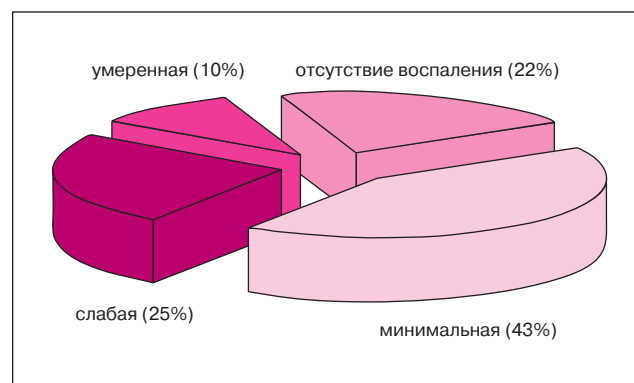


Таблица 2. Распределение пациентов с хроническими болезнями печени в зависимости от показателей гистологического индекса склероза и индекса гистологической активности ($n = 68$)

Гистологический индекс склероза	Индекс гистологической активности (баллы)				
	Воспаление отсутствует ($n = 15$)	1–3 ($n = 29$)	4–8 ($n = 17$)	9–12 ($n = 7$)	13–18 ($n = 0$)
F0	5	1	–	–	–
F1	3	13	4	–	–
F3	7	10	8	2	–
F4	0	5	5	5	–

Таблица 3. Средние уровни концентраций ГК, коллагена IV типа, ММП-2 и ТИМП-1 в зависимости от гистологической стадии фиброза печени по R.G. Knodell и соавт. ($n = 68$)

Показатель Нг/мл, $M \pm SD$	Гистологическая стадия склероза			
	A (F0)	B (F1)	C (F3)	D (F4)
ГК	$20,9 \pm 7,1$	$25,8 \pm 15$	$27,9 \pm 14$	$196,6 \pm 55,4^*$
K IV	$182,7 \pm 52,6$	$185,7 \pm 88,4$	$172,9 \pm 48,6$	$413,7 \pm 153,9^*$
ММП-2	$241,8 \pm 82,9$	$257,5 \pm 50,2$	$270,2 \pm 90$	$347,2 \pm 71,3^*$
ТИМП-1	$509,7 \pm 106,1$	$448,7 \pm 96,5$	$442,6 \pm 122,7$	$585,8 \pm 148,8$

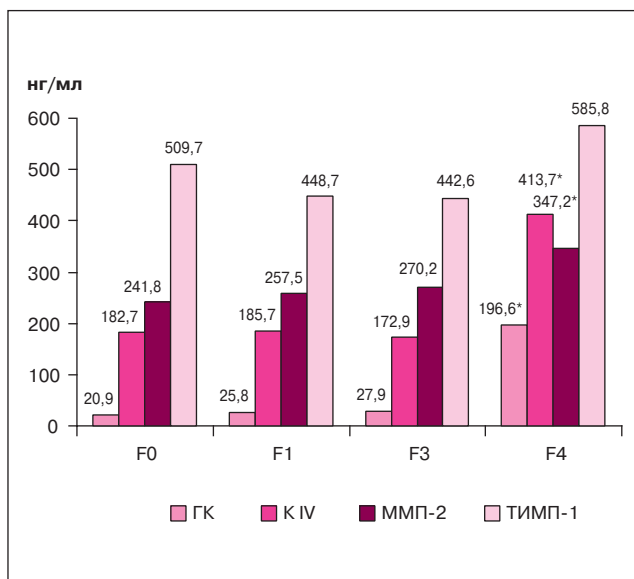
Примечание:

* — уровень достоверности различий по сравнению с предшествующими тремя группами, $p < 0,01$;

ГК — гиалуроновая кислота; ММП — матриксные металлопротеиназы; K IV — коллаген IV типа;

ТИМП — тканевой ингибитор металлопротеиназ.

Рис. 4. Динамика средних концентраций ГК, коллагена IV типа, ММП-2 и ТИМП-1 у пациентов с хроническими болезнями печени в зависимости от гистологической стадии фиброза печени по R.G. Knodell и соавт. ($n = 68$)



Примечание.

* — уровень достоверности различий по сравнению с предшествующими тремя группами, $p < 0,01$; ГК — гиалуроновая кислота; ММП — матриксные металлопротеиназы; К IV — коллаген IV типа; ТИМП — тканевой ингибитор металлопротеиназ.

ХБП не выявлено достоверных различий между пациентами с ИГА = 1–3, ИГА = 4–8, ИГА = 9–12, а также при отсутствии воспалительных изменений.

Выявленные закономерности свидетельствуют о том, что изменения сывороточных концентраций ГК, коллагена IV типа и ММП-2 должны вызывать особый диагностический интерес. По данным Patel K. и соавт. (2004) более высокой степенью чувствительности обладает коллаген IV типа, содержание которого в сыворотке крови пациентов с хроническим вирусным гепатитом С даже при незначительном фиброзе печени существенно выше, чем у здоровых людей [8]. Среди исследований подобного рода в педиатрической гепатологии заслуживают внимания работы Lebensztejn D.M. и соавт. (2005, 2007), в которых было показано, что определение сывороточных уровней коллагена IV типа, ММП-2 и ММП-9, ТИМП, а также ламинина может применяться для оценки эффективности противовирусной терапии при хроническом гепатите В у детей [9–11]. Имеются сведения о диагностической значимости упомянутых маркеров, а также ГК при выявлении фиброза печени у детей с бета-талассемией [12]. Результаты других научных исследований свидетельствуют о том, что уровень ГК в сыворотке крови у детей может подтверждать наличие цирроза [8, 13].

Проведенные нами исследования свидетельствуют о том, что определение уровней ГК, коллагена IV типа и ММП-2 в сыворотке крови у детей с ХБП различной этиологии достоверно отражает выраженные фибротические изменения печеночной паренхимы. Очевидно, что данные биохимические параметры могут эффективно использоваться для неинвазивного мониторинга функционального состояния печени при различных формах ее патологии у детей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Эволюция представлений о фиброзе и циррозе печени // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. — 2005. — № 1. — С. 2–7.
2. Пинцани М. Эволюция фиброза печени: от гепатита к циррозу // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 2002. — Т. 12, № 5. — С. 4–9.
3. Ющук Н.Д., Знойко О.О., Сафиуллина Н.Х. и др. Пункционная биопсия печени и возможности неинвазивного мониторинга фиброза при хроническом вирусном гепатите С // Клинические перспективы гастроэнтерологии и гепатологии. — 2002. — № 1. — С. 9–16.
4. Павлов Ч.С., Золотаревский В.Б., Шульпекова Ю.О. и др. Современные методы ранней диагностики фиброза печени // Клиническая медицина: Научно-практический журнал. — 2005. — Т. 83, № 12. — С. 58–60.
5. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей: / Под ред. З.Г. Апросиной, Н.А. Мухина. — М.: ГЭОТАР-Медицина, 1999. — 864 с.
6. Ющук Н.Д., Знойко О.О., Сафиуллина Н.Х. и др. Диагностическая роль выявления коллагена IV типа и гиалуроновой кислоты в сыворотке крови больных хроническим гепатитом С для определения стадии фиброза печени // Терапевтический архив. — 2005. — Т. 77, № 4. — С. 50–55.
7. Tran A., Hastier P., Barjoan E.M. et al. Non invasive prediction of severe fibrosis in patients with alcoholic liver disease // Gastroenterol. Clin. Biol. — 2000. — V. 24, № 6–7. — P. 626–630.
8. Patel K., Gordon S.C., Jacobson I. et al. Evaluation of a panel of noninvasive serum markers to differentiate mild from moderate to advanced liver fibrosis in chronic hepatitis C patients // J. Hepatol. — 2004. — V. 41, № 6. — P. 935–942.
9. Lebensztejn D.M., Skiba E., Sobaniec-Lotowska M.E. et al. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in children with chronic hepatitis B treated with lamivudine // Adv. Med. Sci. — 2007. — V. 52. — P. 114–119.
10. Lebensztejn D.M., Sobaniec-Lotowska M.E., Bauer M. et al. Serum fibrosis markers as predictors of an antifibrotic effect of interferon alfa in children with chronic hepatitis B // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. — 2005. — V. 17, № 8. — P. 843–848.
11. Lebensztejn D.M., Skiba E., Sobaniec-Lotowska M.E. et al. Serum hyaluronan and laminin level in children with chronic hepatitis B during long-term lamivudine treatment // Hepatogastroenterology. — 2007. — V. 54, № 75. — P. 834–838.
12. Xu H.G., Fang J.P., Huang S.L. et al. Diagnostic values of serum levels of HA, PC III, C IV and LN to the liver fibrosis in children with beta-thalassemia major // Zhonghua Er Ke Za Zhi. — 2003. — V. 41, № 8. — P. 603–606.
13. Saltik-Temizel I.N., Kocak N., Ozen H. et al. Serum hyaluronic acid concentrations in children with cirrhosis // Indian J. Gastroenterol. — 2004. — V. 23, № 4. — P. 129–130.