

А.Н. Сурков

Научный центр здоровья детей РАМН, Москва

Современные методы диагностики фиброза печени у детей

Контактная информация:

Сурков Андрей Николаевич, аспирант гастроэнтерологического отделения НИИ педиатрии Учреждения РАМН
Научного центра здоровья детей РАМН

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2/62, тел.: 8 (499) 134-15-82

Статья поступила: 19.12.2008 г., принята к печати: 04.05.2009 г.

Представленный обзор освещает актуальную проблему новых методов диагностики фиброза печени при различных формах хронической патологии этого органа у детей. Они характеризуются многообразием клинических форм, прогрессирующим течением с формированием фибротических изменений в печени и возможностью исхода в цирроз. Авторами рассмотрены современные методы пункционной биопсии печени и неинвазивной визуализации, обоснована необходимость поиска неинвазивных маркеров печеночного фиброза с использованием серологических методов диагностики. В основу таких тестов положено выявление различных молекулярных соединений, участвующих в образовании компонентов экстрацеллюлярного матрикса и являющихся активаторами фиброгенеза. Описаны изменения таких маркеров фиброза печени, как гиалуроновая кислота, коллаген IV типа, матриксные металлопротеиназы-2 и -9, тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ-1, трансформирующий фактор роста-бета1, которые могут быть рекомендованы для неинвазивного мониторинга фиброза печени у детей.

Ключевые слова: фиброз печени у детей, серологические маркеры фиброзирования, диагностическое значение биохимических маркеров.

Хронические болезни печени являются значимой проблемой современного здравоохранения [1]. В детской гепатологии важное место занимают различные формы хронической патологии печени, которые характеризуются многообразием клинических проявлений, прогрессирующим течением, формированием фибротических изменений в ткани органа и возможностью исхода в цирроз печени.

Основные звенья патогенеза фиброза печени

Формирование фиброза печени (ФП) является следствием нарушений баланса между процессами синтеза и распада экстрацеллюлярного матрикса с преобладанием процессов образования внеклеточных матричных компонентов [2]. Важнейшим клеточным участником фиброгенеза в печени являются звездчатые клетки (ЗК), которые располагаются в пространстве Диссе между

A.N. Surkov

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

Modern diagnostic tools for detecting hepatic fibrosis in children

The present review highlights the new diagnostic tools for detecting hepatic fibrosis against the backdrop of different liver pathologies in children. They are characterized by a variety of the clinical forms, progressive course along with the fibroid changes in liver and possible result in the liver cirrhosis. The authors considered the modern methods of the needle liver biopsy and noninvasive visualization, as well as justified the necessity to look for the noninvasive markers of the fibroid liver by means of the antibody-mediated diagnostic methods. Such tests are based on identification of various molecular compounds, which are fibrogenesis activators and take part in the formation of the extracellular matrix components. They also described changes of such fibroid liver markers, as hyaluronic acid, collagen type IV, matrix metalloproteinases-2 and -9, tissular inhibitor of the matrix metalloproteinases-1, transforming growth factor- β 1, which may be recommended for the noninvasive monitoring of the hepatic fibrosis in children.

Key words: hepatic fibrosis, antibody-mediated fibrosis markers, children.

эндотелиальными клетками и поверхностью гепатоцитов, обращенной к синусоиду. При действии различных повреждающих агентов ЗК активируются, на их поверхности увеличивается количество рецепторов к цитокинам, стимулирующим пролиферацию и фиброгенез. И затем в пространстве Диссе начинает накапливаться патологический коллагеновый матрикс, препятствующий нормальному обмену веществ между кровью синусоидов и гепатоцитами, то есть, проявляется т.н. феномен «капилляризации синусоидов». Таким образом, активированные ЗК печени являются главными продуцентами внеклеточных матричных компонентов, таких как коллагены I, III и IV типов, фибронектин и ламинин, матриксные металлопротеиназы (ММП) из семейства цинкзависимых эндопептидаз, играющих главную роль в преобразовании внеклеточного матрикса. Протеолитическая активность ММП может быть блокирована тканевыми ингибиторами металлопротеиназ (ТИМП) — группой белков, также секретируемых ЗК. Поэтому активированные ЗК играют основную роль не только в синтезе фиброзной ткани в печени, но и в ее разрушении [3].

Активация ЗК осуществляется путем воздействия на них различных медиаторов, непосредственно участвующих в реализации воспаления, главными из них являются:

- активные формы кислорода (АФК), альдегиды, инсулиноподобный фактор роста-1, секретируемые поврежденными гепатоцитами;
- цитокины — тромбоцитарный фактор роста (ТрФР), фактор роста фибробластов (ФРФ), трансформирующий фактор роста $\beta 1$ (ТФР $\beta 1$), фактор некроза опухоли α (ФНО α), интерлейкин 1 (ИЛ 1), АФК, продуцируемые клетками Купфера и моноцитами;
- ТрФР, ФРФ, ИЛ 1, ТФР $\beta 1$, оксид азота, эндотелин-1, АФК, продуцируемые клетками эндотелия синусоидов печени;
- ФНО α , интерферон γ , секретируемые тромбоцитами [2, 3].

Интенсивность и направленность молекулярных реакций с участием этих соединений определяют состав и особенности накопления элементов ЭЦМ, что приводит к избыточному развитию патологической соединительной ткани в печени с формированием ее фиброза и цирроза.

В педиатрической гепатологической клинике существует множество способов диагностики ФП и цирроза печени при хронических болезнях печени у детей, которые с разной степенью полноты позволяют оценить характер и степень патологических изменений в печени.

Широко распространенными методами диагностики патологии печени у детей являются различные способы визуализации (ультразвуковое и рентгеновское исследование, компьютерная томография, магнито-резонансная томография). Однако, с помощью визуализации практически невозможно различить промежуточные стадии формирования ФП и не всегда удается выявить ранние признаки ее цирроза.

Известно, что точная диагностика ФП обеспечивается гистологическим исследованием ее ткани, полученной пункционной биопсией, хотя этот инвазивный метод не всегда безопасен для больного [4].

Роль биопсии печени

В настоящее время биопсия печени является основным методом исследования, используемым для изучения этиологии и тяжести поражения органа, оценки прогноза болезни и эффективности проводимой терапии [5]. Наиболее широко применяется транскутанная пункционная биопсия печени (ПБП), которая выполняется с помощью

иглы Менгини (Menghini). Значительно реже в педиатрии применяются краевые резекционные способы биопсии, проводимые во время лапаротомии. Ограниченность материала, получаемого при биопсии, часто не позволяет распознать нарушение дольковой структуры печени с узловой ее регенерацией или выявить очаговый процесс фиброобразования. В этом плане преимущество имеет лапароскопический способ забора материала, позволяющий макроскопически оценить состояние печени. Некоторые авторы указывают, что щипковая или игольная лапароскопическая биопсия печени не может служить альтернативой транскутанному пункционному способу, так как является неоправданным расширением оперативного вмешательства, не дающим при этом дополнительной диагностической информации [6].

В последние годы выполняются трансвенозные биопсии, которые выполняются у больных с высоким риском кровотечений, при массивном асците, малых размерах печени и фульминантной печеночной недостаточности [4, 7]. Такая техника позволяет получить до 10–12 образцов ткани из разных отделов печени у одного больного, что делает ее информативной при скрыто текущем заболевании, позволяя уже на ранних этапах выявить фиброз вокруг стенок центральных вен [8]. Для проведения таких биопсий необходимо ангиографическое оборудование, хорошо обученный персонал и обязательное наличие дефибриллятора, поскольку при прохождении катетера через правое предсердие возможно развитие нарушений ритма сердца.

После получения гепатопунктата проводится его гистологическое исследование с помощью анализа серийных ультратонких срезов [7, 9]. Причем для адекватной оценки степени выраженности фибротических процессов необходимы специальные методы окраски препаратов для определения разных типов соединительной ткани. Коллагеновые волокна окрашиваются пикрофуксином по методу Ван-Гизона, а также трихромовым способом Маллори в различных модификациях; эластические волокна — фуксином по Харту или орсеином по Унна–Тенцеру; ретикулярные (аргиофильные) волокна — путем импрегнации серебром по Футу [6, 7]. Кроме того, при оценке морфологических изменений в печени необходимо помнить о быстро наступающих изменениях тканей в плохо фиксированном материале (толстые срезы, некачественная фиксация, перекрашивание, несоблюдение правил приготовления микропрепаратов), которые затрудняют оценку гистологических изменений и нередко приводят к гипердиагностике некрозов печени.

Качество диагностики ФП может быть повышено при сочетании гистологического, гистохимического, электронно-микроскопического и морфометрического методов [10]. При этом данные микроскопического анализа пунктата печени, как обязательного элемента диагностического процесса, должны сопоставляться с клинико-лабораторными данными, так как без такой связи объективная оценка морфологических изменений ткани органа невозможна.

В последние годы были разработаны специфичные специальные полуколичественные методики, позволяющие с использованием цифрового эквивалента определять активность процесса (Knodel, Ishak, METAVIR) и стадию фиброза (Desmet). Однако, отсутствие четкого разграничения критериев оценки выраженности фиброза печени и некровоспалительной реакции приводят к неоднозначной трактовке полученных данных [9, 10]. Кроме того, морфологическая оценка в значительной мере является субъективной и зависит от опыта и квалификации патоморфо-

лога. Необходимо также подчеркнуть, что результатом такого морфологического исследования являются статичные данные, не отражающие баланс между синтезом и разрушением компонентов экстрацеллюлярного матрикса, и, следовательно, не несущие информации о степени прогрессирования фиброза [11]. Информативным считается образец ткани длиной не менее 15 мм, содержащий не менее 3–4-х портальных трактов. Некоторые исследователи придерживаются мнения, что образец ткани печени является информативным, если содержит 11 и более портальных трактов и имеет длину не менее 20 мм, в то время как другие авторы указывают даже еще большую длину образца — 25 мм. Причем отсутствие признаков патологического процесса в гепатобиоптате не исключает его наличия у больного [12, 13].

Одномоментный забор нескольких образцов ткани печени при проведении биопсии улучшает информативность и точность ее морфологического исследования. Качество диагностики возрастает до 80–100% при исследовании сразу трех биоптатов, полученных одновременно из разных участков печени [14, 15]. Однако, риск повреждений печени после одномоментного забора более трех столбиков ее ткани тоже возрастает [16]. Повторные пункции иглы через паренхиму увеличивают степень травматизации органа и тем самым приводят к возрастанию риска геморрагических осложнений [3].

К наиболее частым осложнениям ПБП относятся болевые ощущения в месте прокола, реже в эпигастральной или окологрудиной областях. Выраженный болевой синдром, требующий фармакологической коррекции, наблюдается в 1,5–3% случаев. Эпизоды рефлекторной гипотензии, сопровождающиеся тошнотой и рвотой, вызванной сосудисто-вагусными рефлексам, отмечаются у 3% пациентов [16]. Массивные кровотечения с угрозой для жизни пациента встречаются в 0,4–0,5% биопсий. Образование подкапсульных гематом печени выявляется у 23% больных [17]. Повреждения рядом расположенных органов наблюдаются в 0,01–0,1% случаев [18]. Имеются сообщения о проколах легкого, толстой кишки, почек, желчного пузыря, развитии подкожной эмфиземы. Очень редко после проведения биопсии возможно развитие сепсиса и аллергических реакций на анестезию. Описаны случаи поломки биопсийных игл во время манипуляций, а также образование внутрипеченочных артериовенозных свищей [20]. У детей общее количество осложнений несколько больше, чем у взрослых, и достигает 4% [21].

В целом, количественная морфометрия с применением специфических методов окраски препаратов ткани печени на волокна, входящие в состав фиброзной ткани, имеет более высокую чувствительность и лучше отражает происходящие в органе изменения до и после лечения.

Широко используется также фотоколориметрический метод, дающий возможность количественно оценивать фиброзные поля после морфологической окраски азаном. Описанные способы оценки ФП явились основой для создания автоматизированных компьютерных систем, позволяющих судить о прогрессировании или обратном развитии фиброза при обобщении данных, полученных после повторных биопсий печени через небольшие (1 год) промежутки времени. Высокочувствительным методом диагностики фиброза печени является спектрофотоколориметрическое исследование ее ткани с окраской образца сириусом красным и использованием компьютерного анализатора у больных хроническим вирусным гепатитом С. Этот метод позволяет оценить динамику отложения коллагеновых волокон в пределах портального тракта до и после проведения интерферонотерапии. Возможно так-

же определение распространенности фиброза в периферической зоне печеночной дольки путем вычисления коллагенового индекса и количественной оценки депозитов коллагена в пространствах Диссе [22].

Однако, такой количественный анализ образцов ткани затруднен из-за отсутствия адекватных стандартов сравнения, хотя при сохранной структуре печени его результаты достаточно надежны. Трудности диагностики возникают при циррозе печени, при котором неясно, какую часть печеночной ткани составляет фиброзная ткань [1, 21].

Таким образом, в условиях педиатрической клиники ПБП рекомендуется выполнять только в том случае, если иные, неинвазивные методы исследования не позволяют сформулировать точный диагноз. В связи с этим в настоящее время наметилась тенденция к сужению показаний к ПБП при хронических болезнях печени у детей, а если она и проводится, то, как правило, однократно — с целью первичной диагностики заболевания.

Неинвазивные методы визуализации печени

Среди распространенных и чувствительных методов визуализации ткани печени чаще всего выделяют ультразвуковое ее исследование (УЗИ) в режиме серой шкалы [1, 23]. Отсутствие противопоказаний к применению, безболезненность, относительно высокая информативность, доступность, сравнительно низкая стоимость исследования позволяют считать УЗИ основным методом визуализации при обследовании детей с патологией печени. Общими УЗ-признаками цирроза печени являются: уменьшение или небольшое увеличение размера обеих долей, неровный контур печени, гиперэхогенность паренхимы органа с выраженной неоднородностью за счет гипоехогенных крупно- и среднеочаговых участков, снижение визуализации и искажение направления и сужение печеночных вен, расширение воротной и селезеночной вен, спленомегалия и др. [23]. Специфичность УЗИ остается невысокой: большая группа заболеваний печени сопровождается сходной ультразвуковой картиной, что не всегда позволяет установить точный клинический диагноз и степень фиброзирование печени непосредственно при проведении исследования.

В последние годы с целью диагностики ФП и других болезней печени у детей активно используются компьютерная томография (КТ) и магнито-резонансная томография (МРТ), которые позволяют получить изображение органа в виде последовательных горизонтальных срезов. Важным достоинством КТ и МРТ является высокая степень стандартизации методов, позволяющая стереотипно интерпретировать томограммы, полученные в разных лечебных учреждениях.

Основными диагностическими КТ-признаками цирроза являются: уменьшение печени в размерах, узловатый или неровный ее край, неоднородность паренхимы, увеличение селезенки, расширение диаметров воротной и селезеночной вен, появление сосудистых коллатералей [24].

Внедрение в клиническую практику спиральных компьютерных томографов (СКТ), с помощью которых можно провести исследование с внутривенным введением контрастного вещества позволяет оценить томограммы в артериальной, портальной, а также отсроченной фазах контрастирования. Улучшение визуализации структуры печени возможно при наложении молекулярного формата изображения на анатомический с использованием специальных молекулярных зондов и соответствующего оборудования [25].

В связи с изменением физических свойств печени при ФП на фоне избыточного развития фиброзной ткани перспек-

тивными в клинических условиях представляются методы определения плотности или эластичности паренхимы печени, которые условно подразделяют на косвенные и прямые. К первым относятся, например, определение скорости кровотока в сосудах портальной системы или пульсативного индекса селезеночной артерии [26].

Среди прямых методов определения плотности печени хорошо зарекомендовала себя магнитно-резонансная эластография (МРЭ), при которой генерируется прерывистая или постоянная волна сдвига, распространяющаяся в паренхиме печени. Визуализация волны осуществляется с помощью модифицированного фазоконтрастного МР-метода, после чего изображения обрабатываются с помощью алгоритма инверсии для получения количественной оценки плотности органа (эластограммы). Установлена не только высокая чувствительность (98%) и специфичность (99%) МРЭ по сравнению с биопсией печени в диагностике ФП, но и выявлены различия в плотности печени у пациентов с минимальным фиброзом в сравнении со здоровыми добровольцами, что до сих пор не удавалось показать с помощью других методов оценки степени фиброобразования печени [27, 28].

Среди прямых методов оценки плотности паренхимы печени таких недостатков лишена ультразвуковая эластография печени (УЭП), выполняемая с помощью аппарата Fibroscan (Франция), которая обладает несколько меньшей чувствительностью в отношении разграничения отдельных стадий фиброза в отличие от МРЭ. Это связано с отсутствием общепринятых пороговых значений, а также с тем, что при данной методике определяется не содержание соединительной ткани в целом органе, а эластичность в ограниченном участке ткани [29].

Существенное значение в диагностике фиброза печени имеет метод радионуклидной визуализации, особенно скintiграфия печени, позволяющая оценивать накопительно-выделительную функцию органа. В основе этого по существу функционального исследования лежит использование радиофармпрепарата (РФП), меченного технецием-99m (^{99m}Tc), который после внутривенного введения фагоцитируется и распределяется в структурах печени, содержащих клетки ретикулоэндотелиальной системы, в соответствии с локальными значениями органного кровотока. В норме в печени локализуется более 90%, в селезенке — около 5%, а в костном мозге — менее 1% введенного РФП [24]. В зависимости от характера и тяжести патологии эти соотношения меняются. Основная задача радионуклидного исследования — дифференциация характера и уточнение тяжести поражения печени. Диффузные болезни печени манифестируются изменением размера и формы изображения, нарушением распределения радиоколлоида в печени и его внеорганного накопления, параметров фагоцитарной способности ретикулоэндотелиальной системы и печеночного кровотока. ФП rozpoзнается на основании не только выявляемых изменений ее структуры, но и гиперфиксации меченного ^{99m}Tc коллоида (до 50–70%) в селезенке и костном мозге вследствие сниженного захвата его ретикулоэндотелиальной системой печени. Для тяжелого цирроза печени с портальной гипертензией характерна триада скintiграфических признаков: увеличение левой доли с неравномерным распределением в ней РФП, спленомегалия с высоким накоплением активности и визуализация костей таза и позвоночника. Поражения ткани печени в зависимости от их распространенности проявляются наличием одиночных или множественных дефектов накопления РФП в пределах одной или обеих долей. Эти изменения не носят специфического характера и могут выявляться не только при

цирротической трансформации печени, но и, например, при жировом гепатозе, что не позволяет широко применять гепатоскintiграфию для определения степени фиброобразования печени [24, 28]. Следует отметить, что разработка новых радионуклидов и молекул-носителей для визуализации метаболических процессов в печени и их нарушений при ФП определяют новые перспективы исследований перфузии органа, локальных концентраций различных метаболитов и составления молекулярных карт их распределения в ткани, что позволит улучшить топическую диагностику ФП у детей.

Для совершенствования диагностических методов раннего выявления ФП необходим поиск различных биомаркеров печеночного фиброза, который в последние годы интенсивно продолжается и основывается на установленных закономерностях его формирования [9, 30].

Биохимические показатели фиброза печени

Для неинвазивной оценки коллагенообразования в печени могут использоваться количественные методы анализа белковосвязанного и свободного гидроксипролина. Белковосвязанный гидроксипролин отражает процесс синтеза коллагена, и увеличение его содержания в крови свидетельствует об усилении коллагенообразования. Свободный гидроксипролин образуется при распаде коллагена, и, таким образом, увеличение его концентраций в крови отражает активность разрушения коллагена.

Перспективным направлением в неинвазивном определении функции печени, косвенно свидетельствующим о степени фиброза, считаются дыхательные тесты с различными субстратами, меченными ^{13}C . Описана достаточно высокая диагностическая ценность экспираторных проб с ^{13}C -галактозой и ^{13}C -аминопирином при выявлении компенсированного цирроза печени [32].

Имеются данные об информативности определения количества пиридинолина в моче как маркера фиброобразования печени. Пиридинолин является одним из продуктов синтеза коллагена в печени, и его уровень в ткани органа отражает распространенность фибротических изменений, указывая также на возможность обратного развития ФП. Пиридинолин выделяется с мочой как продукт деградации коллагена, а его концентрация в моче исследуется хроматографическим или иммунологическим методами [33]. Обсуждается роль изоферментов глутатион-S-трансферазы в диагностике фиброза печени [34].

Для достаточно точного определения промежуточных стадий ФП до сих пор нет специальных лабораторных тестов. Широкодоступное в клинической практике определение изменений активности аминотрансфераз (АлАт, АсАт) не отражает тяжесть гистопатологических изменений в печени. Альтернативой являются различные диагностические шкалы, особенности которых заключаются в комплексной оценке некоторых клеточных и биохимических параметров, косвенно свидетельствующих об интенсивности процессов фиброобразования в печени. Широкое распространение получила дискриминантная счетная шкала Bonacini (1997), учитывающая количество тромбоцитов, протромбиновое время в виде международного нормализованного отношения (МНО) и соотношение активности АлАт/АсАт. Диапазон оценки колеблется от 0–11 баллов. Было показано, что у больных с количеством баллов 7 и более можно с большой вероятностью предполагать выраженный фиброз или цирроз печени, а у пациентов с количеством баллов 5 и менее — минимальный фиброз или его отсутствие без проведения ПБП. Тем не менее нужно отметить, что данная шкала позволяет оценить выраженность фиброза ткани печени лишь весьма ориен-

тировочно; специфичность метода составляет 98% при чувствительности 46% [35].

В свою очередь S. Sheriff и соавт. (2001) помимо вышеописанных параметров ввели несколько дополнительных факторов, из которых наиболее информативными оказались возраст, активность гаммаглутамилтранспептидазы и концентрация альбумина в сыворотке крови [36].

Вместе с тем в последние годы было рекомендовано определение биохимических маркеров фиброзирования печени, по изменениям содержания которых в сыворотке крови можно судить о процессах фиброгенеза и фибролиза. К названным маркерам относятся регуляторы соединительнотканного гомеостаза печеночной паренхимы: коллагеназы и их ингибиторы, продукты синтеза коллагена, гликопротеиды и полисахариды, а также некоторые цитокины. Использование этих маркеров в качестве однократных тестов существенно ограничено, поскольку, отражая метаболизм компонентов внеклеточного матрикса, они могут давать ложноположительный результат в диагностике фиброза при наличии активного воспалительного процесса в ткани печени. Кроме того, они неспецифичны для печеночной ткани и могут отражать процессы, происходящие в других органах [37].

В связи с этим были предложены комбинированные системы оценки фиброза, которые основаны на сочетанном определении перечисленных выше истинных и суррогатных маркеров фиброза (Fibrospect II, Hepascore, Fibrometer и ряд других) [38]. За счет увеличения специфичности они являются более информативными тестовыми системами в определении выраженного фиброза или цирроза печени. Показана достаточно высокая диагностическая точность этих методов, составляющая в среднем 80% для выявления выраженного фиброза и 92% — при диагностике цирроза печени [39]. Следует отметить, что эффективность клинического использования этих тестов может быть несколько ниже, поскольку их результаты могут изменяться не только при патологии печени, но и при заболеваниях других органов, а также под влиянием различной, в том числе противифибротической терапии [40].

Значительное число исследований посвящено изменениям концентраций ТФР β , K-IV, аминотерминального пропептида коллагена III типа (АПК-III), ГК, ММП и ТИМП в сыворотке крови. Особенно активно обсуждается значимость повышенных концентраций гиалуроновой кислоты (ГК) в диагностике ФП. ГК является полисахаридом с большой молекулярной массой и широко представлена в ЭЦМ. В печени ГК синтезируется активированными ЗК и считается фактором, содействующим фиброгенезу. Часть продуцируемой ГК поставляется лимфатической системой в венозную кровь и может определяться иммуноферментным методом. Не меньшее значение в диагностике ФП и цирроза печени придается такому маркеру, как коллаген IV типа (K IV). Этот предшественник коллагена, подвергаясь посттрансляционным изменениям, образует молекулы коллагена, а затем фибриллы в ЭЦМ. Образование ковалентных межмолекулярных поперечных связей обеспечивает дополнительную механическую прочность коллагеновых волокон. Содержание этих зрелых связей при циррозе печени значительно выше, чем в нормальной ткани печени [41].

Следует отметить, что для неинвазивной диагностики ФП чаще используются комбинации серологических маркеров фиброза. Наиболее часто применяют определение концентраций ГК, K IV и АПК III. Целью таких исследований, как правило, является выявление значимости корреляций между показателями содержания этих маркеров в

сыворотке крови и гистологическими индексами стадий ФП, однако диагностическая точность выявления таких связей все еще обсуждается [39, 42].

Wang T. и соавт. (1998) установили высокий уровень корреляций между различными стадиями ФП у 127 пациентов и концентрациями ГК, АПК III, K IV и ТИМП в сыворотке крови. Причем показатели содержания указанных маркеров тесно коррелировали как со степенью воспаления, так и со стадией фиброза: чем более выраженным в целом было поражение печени, тем выше были показатели указанных маркеров в сыворотке крови [43].

Murawaki Y. и соавт. (2001), обследовавшие 169 больных с ХВГ С, показали высокую диагностическую роль повышенных концентраций ММП, ГК, АПК III, K IV и ТИМП для дифференцировки 1–2 стадии фиброза от 3–4 стадии. Они выявили также, что определение ГК имеет наибольшую значимость по сравнению с другими тестами при диагностике умеренного и выраженного ФП (при уровне ГК ≥ 50 нг/мл чувствительность теста составила 77%, а специфичность 75%) и для выраженной степени воспаления (при уровне ГК ≥ 60 нг/мл чувствительность — 75%, специфичность — 80%) [42].

Наряду с этим были изучены возможности определения динамики содержания маркеров фиброза печени в сыворотке крови для оценки антифибротического эффекта интерферона при лечении ХВГ С у взрослых пациентов. T. Fukuzaki и соавт. (2000) исследовали изменения концентраций ГК, АПК-III и K IV у больных ХВГ С до и после лечения интерфероном и установили, что концентрации АПК III и K IV существенно уменьшались у больных с нормализацией активности АЛТ на фоне такой терапии. Уровень ГК снижался медленнее, причем значимое снижение его концентраций по сравнению с исходным содержанием в крови было достигнуто только к 6 мес после отмены терапии. Выявленные изменения содержания маркеров ФП в сыворотке крови представлены авторами как доказательство прямого противовоспалительного и антифибротического эффекта интерфероновой терапии [44].

В работе Ninomiya T. (1998) также анализировались изменения содержания ГК, АПК III и K IV в сыворотке крови 49 больных с ХВГ С до и после лечения интерфероном. При этом тесные и значимые корреляции были выявлены между стадиями фиброза и уровнями ГК при обследовании больных до лечения, умеренные и достоверные — между стадиями фиброза до лечения и концентрациями АПК III, но связи между стадией фиброза и уровнем K IV не были определены. При оценке результатов лечения было установлено существенное снижение только по уровню ГК и лишь у пациентов с устойчивым ответом и регрессией фиброза, подтвержденной контрольной ПБП [45].

Аналогичные исследования информативности изменений концентраций сывороточных маркеров фиброзирования печени: ГК, K IV, преколлагена III типа (П III), ММП-2 и -9, ТИМП-1, ТФР β были проведены у детей в группах с небольшим числом пациентов. Так, Z. Li и соавт. (2006) обследовали 41 новорожденного с внутриутробным гепатитом. Всем детям проводилась биопсия печени с оценкой гистологической стадии фиброза, а в сыворотке крови определялись уровни ГК, K IV, ламинина (ЛН) и П III. При этом были выявлены существенные различия концентраций ГК у больных детей с минимальным, умеренным и выраженным фиброзом [46].

H.G. Xu и соавт. (2003) определяли изменения содержания ГК, П III, K IV и ЛН в сыворотке крови 49 детей с бета-

талассемией, протекавшей с поражением печени, и у 41 условно здорового ребенка. У всех больных детей уровни указанных сывороточных маркеров были существенно повышены по сравнению с референтной группой, а значимые различия между стадиями фиброзирования печени и концентрациями указанных маркеров ФП были выявлены только по ГК и П III. С использованием дискриминантного анализа авторами было выведено решающее правило для прогнозирования стадии фиброза печени: $0,002 \times \text{ГК} + 0,003 \times \text{П-III} + 0,0022 \times \text{К-IV} + 0,006 \times \text{ЛН} - 1,859$ (чувствительность 93,8%, специфичность 68,2%). Кроме этого, были обнаружены значимые умеренные корреляции между уровнями ГК и П III с концентрацией железа (ГК: $r = 0,318$, $p = 0,035$; П-III: $r = 0,305$, $p = 0,044$). Авторы заключили, что определение уровней ГК и П III в крови может иметь практическое значение для неинвазивной диагностики стадии фиброза, а использование решающего правила существенно повышает точность диагностики [47].

В последнее время V. Nobili и соавт. (2009) показали высокую диагностическую значимость определения сывороточных маркеров фиброирования (ГК, АПК III, ТИМП-1) для разграничения стадий минимального и выраженного фиброза у детей с неалкогольным стеатогепатитом [48].

D.M. Lebensztejn и соавт. (2007) обследовали 41 ребенка с хроническим вирусным гепатитом В, из них 29 детям проводилась противовирусная терапия ламивудином в течение 2 лет. У всех пациентов в сыворотке крови определяли концентрации ММП-9, ТИМП-1 и ТИМП-2 до начала лечения и через 24 мес после его завершения. Уровни ТИМП-1 и ТИМП-2 в крови были значительно выше, а ММП-9 ниже у детей с хроническим вирусным гепатитом В, чем у практически здоровых детей. Была выявлена положительная корреляция между ММП-2 и гистологической стадией фиброза, а также отрицательная корреляция между ММП-9 и гистологической стадией фиброза. С по-

мощью определения ММП-9 авторам удалось показать возможность разграничения детей с минимальным и выраженным фиброзом. На фоне терапии ламивудином изменений в гистологической картине печени не отмечалось, хотя значительно снизился уровень ТИМП-2 ($p = 0,01$) и возросло содержание ММП-9 в сыворотке крови, что, по мнению авторов, подтверждает антифибротический эффект ламивудина [49].

Вместе с тем, ранее эти же авторы показали, что уровень ТФР $\beta 1$ не коррелировал со стадией ФП у детей с ХВГ В, а его концентрация в крови была выше, чем у условно здоровых детей. Несмотря на то, что не было выявлено значимых различий между уровнями ТФР $\beta 1$ до и после лечения детей ламивудином, отмечалась тенденция к его снижению на фоне противовирусной терапии [50].

В то же время В. Marek и соавт. (2003), обследовавшие 40 детей с ХВГ В и 50 с ХВГ С, установили значительное повышение ТФР $\beta 1$ и АПК III по сравнению с контролем, причем концентрация ТФР $\beta 1$ в отличие от АПК-III достоверно возрастала по мере прогрессирования фибротических изменений в печени [51].

Таким образом, наряду с инструментальными и гистологическими методами диагностики ФП в последние годы доказано особое место биохимических маркеров в определении динамики фиброирования и оценке эффективности специфической терапии различных форм хронической патологии печени у детей. Наличие современных диагностических систем для определения указанных биохимических маркеров фиброирования печени в сыворотке крови при различных формах хронической патологии этого органа у детей позволяет рекомендовать их для широкого клинического применения. Очевидно, что дальнейшее накопление клинического материала позволит установить точное диагностическое и прогностическое значение сывороточных маркеров фиброирования печени у детей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Иваников И.О., Сюткин В.Е. Общая гепатология. — М.: Медпрактика-М, 2003. — 160 с.
- Пинцани М. Эволюция фиброза печени: от гепатита к циррозу // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопрокт. — 2002. — Т. 12, № 5. — С. 4–9.
- Gressner A.M., Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF- β as major players and therapeutic targets // J. Cell. Mol. Med. — 2006. — V. 10, № 1. — P. 76–99.
- Маев И.В., Чарный А.М., Вьючнова Е.С. и др. Биопсия печени / Под ред. И.В. Маева. М., 2002. — 28 с.
- Юшук Н.Д., Знойко О.О., Сафиуллина Н.Х. и др. Пункционная биопсия печени и возможности неинвазивного мониторинга фиброза при хроническом вирусном гепатите С // Клинич. перспективы гастроэнтерол. и гепатол. — 2002. — № 1. — С. 9–16.
- Комарова Д.В., Цинзерлинг В.А. Морфологическая диагностика инфекционных поражений печени. — СПб.: Сотис, 1999. — 245 с.
- Серов В.В., Лапиш К. Морфологическая диагностика заболеваний печени. — М.: Медицина, 1989. — 336 с.
- Хронические вирусные гепатиты в детском возрасте: критерии дифференциального диагноза и терапии. Пособие для врачей / Под редакцией В.В. Ивановой, Б.С. Каганова. — М.: Издательство «Династия», 2007. — 32 с.
- 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.
- Regev A., Berho M., Jeffers L.J. et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection // Am. J. Gastroenterol. — 2002. — V. 97. — P. 2614–2618.
- Bataller R., Brenner D.A. Liver fibrosis // J. Clin. Invest. — 2005. — V. 115, № 2. — P. 209–218.
- Sheriff S., Cammel G., Carey W.D. et al. The role of liver biopsy in chronic hepatitis C // Hepatology. — 2001. — V. 33, № 1. — P. 196–200.
- Colloredo G., Guido M., Sonzogni A. et al. Impact of liver biopsy size on histological evaluation of chronic viral hepatitis: the smaller the sample, the milder the disease // J. Hepatol. — 2003. — V. 39. — P. 239–244.
- Abdi W., Millan J.C., Mezey E. Sampling variability on percutaneous liver biopsy // Arch. Intern. Med. — 1979. — V. 139. — P. 667–669.
- Perrault J., McGill D.B., Ott B.J. et al. Liver biopsy: complications in 1000 inpatients and outpatients // Gastroenterology. — 1978. — V. 74, № 1. — P. 103–106.
- Maharaj B., Bhoora I.G., Complications associated with percutaneous needle biopsy of the liver when one, two, three specimens are taken // Postgrad. Med. J. — 1992. — V. 68. — P. 964–967.

17. Minuk G.Y., Shutherland L.R., Wiseman D. et al. Prospective study of the incidence of ultrasound-detected intrahepatic and subcapsular haematomas in patients randomized to 6 or 24 hours of bed rest after percutaneous liver biopsy // *Gastroenterology*. — 1987. — V. 92. — P. 290–293.
18. Piccinini F., Sagnelli E., Pasquale G. et al. Complications following percutaneous liver biopsy // *J. Hepatol* — 1986. — V. 2. — P. 165–173.
19. Stauber R.E., Lackner C. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C // *World J. Gastroenterol*. — 2007. — V. 13, № 32. — P. 4287–4294.
20. Okuda K., Musha H., Nakajima Y. et al. Frequency of intrahepatic arteriovenous fistula as a sequelae to percutaneous needle puncture of the liver // *Gastroenterology*. — 1978. — V. 74. — P. 1204–1207.
21. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей: Практич. рук.: Пер. с англ. / Под ред. З.Г. Апросиной, Н.А. Мухина. — М.: Гэотар Медицина, 1999. — 864 с.
22. Павлов Ч.С., Золотаревский В.Б., Томкевич М.С. и др. Возможность обратимости цирроза печени (клинические и патогенетические предпосылки) // *Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктолог*. — 2006. — Т. 16, № 1. — С. 20–29.
23. Ультразвуковая диагностика болезней печени у детей / Под ред. И.В. Дворяковского и др. — М.: Династия, 2008. — 96 с.
24. Шотемор Ш.Ш., Пурижанский И.И., Шевякова Т.В. и др. Путеводитель по диагностическим изображениям. — М.: Советский спорт, 2001. — 400 с.
25. Залесский В.Н., Жайворонок М.Н., Дынник О.Б. Спиральная компьютерная томография диффузных поражений печеночной ткани: цирроз печени // *Україн. Мед. Час*. — 2006. — № 2 (52). — С. 50–56.
26. Liu C., Hsu S., Lin J. et al. Неинвазивная диагностика фиброза печени при хроническом гепатите С с помощью доплерографии по индексу пульсации селезеночной артерии // *Клин. гастроэнтерол. и гепатол*. — 2008. — Т. 1, № 2. — С. 101–109.
27. Yin M., Talwalkar J.A., Glaser K.J. et al. Оценка выраженности фиброза печени с помощью магнитно-резонансной эластографии // *Клин. гастроэнтерол. и гепатол*. — 2008. — Т. 1, № 2. — С. 92–100.
28. Исаков В.А. Как определять выраженность фиброза печени и зачем? // *Клин. гастроэнтерол. и гепатол*. — 2008. — Т. 1, № 2. — С. 72–75.
29. Jayant A. Talwalkar, David M. Kurtz et al. Непрямая эластография печени с помощью ультразвука в диагностике фиброза: систематический обзор и метаанализ // *Клин. гастроэнтерол. и гепатол*. — 2008. — Т. 1, № 2. — С. 76–83.
30. Poynard T., Morra R., Ingiliz P. et al. Biomarkers of liver fibrosis // *Adv. Clin. Chem*. — 2008. — V. 46, № 1. — P. 131–160.
31. Giannini E.G., Fasoli A., Borro P. et al. Применение экспираторных проб с С-галактозой и С-аминопиринном для оценки функции печени при хронических заболеваниях печени // *Клин. гастроэнтерол. и гепатол*. — 2008. — Т. 1, № 2. — С. 110–116.
32. Grenard P., Blanquier B., Richard-Blum S.R. Urinary excretion of the collagen cross-link pyridinoline increases during liver fibrogenesis // *J. Hepatol*. — 1997. — V. 26. — P. 1356–1362.
33. Кузнецова А.В., Жердева А.И., Горовенко Н.А. и др. Место и роль серологических маркеров фиброза в диагностике и лечении хронической HCV-инфекции // *Клин. перспективы гастроэнтерол., гепатол*. — 2007. — № 3. — С. 35–39.
34. Guha I.N., Rosenberg W.M. Noninvasive assessment of liver fibrosis: serum markers, imaging, and other modalities // *Clin. Liver Dis*. — 2008. — V. 12, № 4. — P. 883–900.
35. Bonacini M., Hadi G., Govindarajan S. et al. Utility of a discriminant score for diagnosing advanced fibrosis or cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection // *Am. J. Gastroenterol*. — 1997. — V. 92, № 8. — P. 1302–1304.
36. Sheriff S., Cammel G., Carey W.D. et al. The role of liver biopsy in chronic hepatitis C // *Hepatology*. — 2001. — V. 33, № 1. — P. 196–200.
37. Naveau S., Gaudé G., Asnacios A. et al. Diagnostic and prognostic values of noninvasive biomarkers of fibrosis in patients with alcoholic liver disease // *Hepatology*. — 2009. — V. 49, № 1. — P. 97–105.
38. Cadranel J.F., Mathurin P. Prothrombin index decrease: a useful and reliable marker of extensive fibrosis? // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol*. — 2000. — V. 32, № 3. — P. 477–481.
39. Stauber R.E., Lackner C. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C // *World J. Gastroenterol*. — 2007. — V. 13, № 32. — P. 4287–4294.
40. Afdhal N.H., Nunes D. Evaluation of liver fibrosis: a concise review // *Am. J. Gastroenterol*. — 2004. — V. 99, № 6. — P. 1160–1174.
41. Murawaki Y., Ikuta Y., Okamoto K. et al. Diagnostic value of serum markers of connective tissue turnover for predicting histological staging and grading in patients with chronic hepatitis C // *J. Gastroenterol*. — 2001. — V. 36, № 6. — P. 399–406.
42. Verbaan H., Bondeson L., Eriksson S. Non-invasive assessment of inflammatory activity and fibrosis (grade and stage) in chronic hepatitis C infection // *Scand. J. Gastroenterol*. — 1997. — V. 32, № 5. — P. 494–499.
43. Wang T., Wang B., Liu X. Correlation of serum markers with fibrosis staging in chronic viral hepatitis // *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*. — 1998. — V. 27, № 3. — P. 185–190.
44. Fukuzaki T., Kawata S., Imai Y. et al. Changes in serum hepatic fibrosis markers in biochemical responders to interferon therapy for chronic hepatitis C // *Hepatol. Res*. — 2000. — V. 17, № 2. — P. 156–166.
45. Ninomiya T., Yoon S., Hayashi Y. et al. Clinical significance of serum hyaluronic acid as a fibrosis marker in chronic hepatitis C patients treated with interferon-alpha: histological evaluation by a modified histological activity index scoring system // *J. Gastroenterol. Hepatol*. — 1998. — V. 13, № 1. — P. 68–74.
46. Li Z.X., He Y., Wu J. et al. Noninvasive evaluation of hepatic fibrosis in children with infant hepatitis syndrome // *World J. Gastroenterol*. — 2006. — V. 12, № 44. — P. 7155–7160.
47. 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.
48. Nobili V., Parkes J., Bottazzo G. et al. Performance of ELF Serum Markers in Predicting Fibrosis Stage in Pediatric Non-Alcoholic Fatty Liver Disease // *Gastroenterology*. — 2009. — V. 136, № 1. — P. 160–167.
49. 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.
50. Lebensztejn D.M., Sobaniec-Lotowska M.E., Kaczmarek M. et al. Serum concentration of transforming growth factor (TGF)-beta 1 does not predict advanced liver fibrosis in children with chronic hepatitis B // *Hepatogastroenterology*. — 2004. — V. 51, № 55. — P. 229–233.
51. Marek B., Kajdaniuk D., Janczewska-Kazek E. et al. Serum aminoterminal peptide of type III procollagen (PIIINP) and transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta1) levels in patients with chronic hepatitis B and C // *Pol. Arch. Med. Wewn*. — 2003. — V. 109, № 6. — P. 603–608.