УДК 616.36-004-07

© А.П. Щёктова, И.А. Булатова, В.В. Щёкотов

*ГБОУ ВПО Пермский государственный медицинский университет
им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России*

Г. Пермь, Россия

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ СТАДИЙ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НЕИНВАЗИВНОГО КОМПЛЕКСА ЛАБОРАТОРНЫХ МАРКЕРОВ

Аннотация. У 70 больных хроническим гепатитом С в фазе реактивации были измерены в крови концентрации не прямых маркеров фиброза печени. Была установлена корреляционная связь высокой степени плотности печеночной ткани по данным ультразвуковой эластографии с тремя лабораторными параметрами крови: тромбоцитами, фактором некроза опухоли альфа и альбумином, которые были включены в математическую модель диагностики стадии фиброза печени, диагностическая чувствительность которой составила 93,3%, специфичность – 88%. Для возможности индивидуального использования данных предикторов прогрессирования фиброза печени были построены графики ROC кривых и рассчитаны их пороговые значения для оценки риска перехода от F0 к умеренному и выраженному фиброзу.

Ключевые слова: фиброз печени, гепатит С, маркеры, альбумин, тромбоциты, фактор некроза опухоли альфа.

© A.P. Shchekotova, I.A. Bulatova, V.V. Shchekotov

Perm State Medical University named after E.A. Wagner,

Perm, Russia

DIFFERENTIATION OF STAGES OF LIVER FIBROSIS USING NONINVASIVE LABORATORY MARKERS

Abstract. The concentrations of indirect markers of liver fibrosis were measured in the blood of 70 patients with chronic hepatitis C in the reactivation phase. On the basis of ultrasound elastography results the study revealed a correlation between high density of liver tissue and three laboratory parameters of blood: platelets, alpha tumor necrosis factor and albumin, which were included in the mathematical model of liver fibrosis diagnosing, the diagnostic sensitivity of which was 93.3%, the specificity - 88%. To use these predictors of hepatic fibrosis progression individually we made the graphics of ROC curves and calculated their threshold values to assess the risk of transition from F0 to moderate and severe fibrosis.

Keywords: liver fibrosis, hepatitis C, markers, albumin, platelets, alpha tumor necrosis factor.

За последние десятилетия достигнуты значительные успехи в понимании патогенетических и молекулярных основ фиброза печени. Установлено, что фиброз имеет общие механизмы развития при хронических заболеваниях печени различной этиологии [3, 7]. Причиной диффузных заболеваний печени часто является хронический гепатит С (ХГС), широко распространенный во всем мире. Для определения темпов и прогноза развития ХГС, а также вы-

бора оптимальной тактики его лечения необходима точная оценка стадии фиброза печени (ФП) [2, 5].

К настоящему времени проведено большое число исследований по использованию различных биохимических маркеров ФП для лабораторной диагностики его стадий в качестве альтернативы биопсии. Применение некоторых из разработанных индексов и панелей позволяет избежать биопсии более чем у 50% больных ХГС на стадиях выраженного ФП [7, 8].

Однако, диагностика с их помощью начального и умеренного фиброза не столь эффективна [6]. Следует также отметить высокую стоимость многих из существующих на сегодняшний день зарубежных гепатопанелей. Таким образом, проведение дополнительных исследований в этой области позволит разработать новые и, возможно, более эффективные и общедоступные тесты диагностики ФП.

Цель исследования – оценка диагностических характеристик нового неинвазивного комплекса лабораторных тестов для дифференциации стадий фиброза печени у больных ХГС.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 70 пациентов (34 мужчины и 36 женщин) с ХГС в фазе реактивации заболевания средним возрастом $38,2 \pm 8,5$ лет. Набор материала проводили на базе инфекционного отделения № 2 Пермской краевой клинической инфекционной больницы.

Всем пациентам были измерены концентрации непрямых маркеров ФП в крови: альбумин, фактор некроза опухоли-альфа (ФНО- α) и количество тромбоцитов. Уровень альбумина в сыворотке крови пациентов с ХГС определяли фотометрическим методом на автоматическом биохимическом анализаторе Architect c4000 (Abbott Laboratories, США) с использованием набора «Альбумин-Ново» (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск). Концентрацию ФНО- α в сыворотке крови обследуемых лиц измеряли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием набора «альфа-ФНО-ИФА-БЕСТ» (ЗАО

«Вектор-Бест», Новосибирск) и регистрацией результатов на фотометре «Stat-Fax-2100» (США). Количество тромбоцитов определяли в цельной крови, забранной с антикоагулянтом ЭДТА на автоматическом гематологическом анализаторе «Medonic M20» («BOULE MEDICAL AB», Швеция). В качестве референсного метода оценки плотности печени и стадии фиброза применялась ультразвуковая эластография печени (УЗЭ). Данное исследование проводилось с использованием аппарата «Fibroscan-502» («Echosens С.А.», Франция) по стандартной методике.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью компьютерных программ «STATISTICA 6.0», встроенного пакета анализа табличного процессора «Microsoft Excel 2010», а также авторского пакета прикладных электронных таблиц «Stat-2000» [4]. Приведенные коэффициенты корреляции рассчитывались по методу парной линейной корреляции Пирсона, обозначаемого «r». Для вычисления уравнения, позволяющего рассчитать прогнозируемое значение плотности печени по лабораторным показателям, использовался метод множественной регрессии. В качестве зависимой переменной выбрано значение плотности печени по данным УЗЭ, в качестве независимых переменных – те диагностические параметры, которые обнаружили взаимосвязь с выраженностью фиброза. Оценка адекватности прогноза проводилась по четырехпольной таблице с расчетом показателей чувствительности и специфичности, воспроизводимости и соответствия. Прогноз считался удовлетворительным при чувствительности $\geq 80\%$, специфичности $\geq 75\%$, воспроизводимости $\geq 50\%$ и соответствия $\geq 75\%$ [1]. Статистическая значимость уравнения регрессии оценивалась по критерию Фишера. Нулевая гипотеза отвергалась при уровне статистической значимости $p < 0,05$. Для расчета пороговых значений и диагностической эффективности показателей, имеющих предикторную ценность, проводился ROC-анализ и расчет отношения шансов (QR). ROC-кривая отображает графически зависимость количества правильно верифицированных

истинно положительных результатов от количества отрицательных и позволяет оценить эффективность тестов [1]. Оценку графических моделей проводили по экспертной шкале значений площади под ROC-кривой (Area Under Curve), данные которой отражены в таблице 1.

Таблица 1.

Шкала оценки качества модели по значениям площади под ROC-кривой

Интервалы для значений площади под под ROC-кривой (AUC)	Качество модели
0,9 – 1,0	Отличное
0,8 – 0,9	Очень хорошее
0,7 – 0,8	Хорошее
0,6 – 0,7	Среднее
0,5 – 0,6	Неудовлетворительное

Результаты. В рамках данного исследования у пациентов с ХГС была установлена корреляционная связь высокой степени плотности печеночной ткани по данным УЗЭ с тремя лабораторными параметрами крови: тромбоцитами ($r=-0,9$), ФНО- α ($r=0,89$) и альбумином ($r=-0,9$), которые были включены в математическую модель диагностики стадии ФП. Построение модели расчета индекса фиброза (ИФ) печени было выполнено на группе из 70 пациентов с ХГС, из которых у 25 человек по данным УЗЭ фиброза не было (F0), 32 больных имели умеренный ФП (F1-2), у 13 пациентов с ХГС наблюдался выраженный фиброз F3-4. Уравнение множественной регрессии имело следующий вид:

$$\text{ИФ} = 3,79 - 0,0056 \cdot \text{ТР} + 0,0855 \cdot \text{ФНО-}\alpha - 0,0352 \cdot \text{АЛЬБУМИН},$$

где ИФ – индекс фиброза, 3,79 – константа, 0,0056, 0,0855 и 0,0352 – коэффициенты показателей, ТР – тромбоциты ($10^9/\text{л}$), ФНО- α – фактор некроза опухоли альфа сыворотки крови (пг/мл), АЛЬБУМИН – альбумин сыворотки крови (г/л).

Значение индекса фиброза у пациента с ХГС в интервале от 0 до 0,5 включительно свидетельствует об отсутствии ФП (стадия F0), величина ИФ в пределах 0,6-2,5 соответствует умеренной стадии фиброза (F1-2), а более 2,5 –

выраженному ФП (F3-4). Диагностические характеристики математической модели оценки стадии ФП при ХГС представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Диагностические характеристики метода оценки стадии фиброза печени на основе расчета его индекса

Диагностические характеристики	Значения, %
Чувствительность	93,3
Специфичность	88
Показатель воспроизводимости	87,5
Показатель соответствия	81,4

Индекс, рассчитанный по предлагаемой нами формуле, способен дифференцировать стадии фиброза, обладает достаточной информативностью для диагностики начальных, умеренных и выраженных степеней фиброза, в том числе выделении пациентов с отсутствием фиброза.

Для возможности индивидуального использования значимых непрямых предикторов прогрессирования ФП при ХГС, нами были построены графики ROC кривых для параметров тромбоцитов, ФНО- α и альбумина (рис. 1).

Значение площади под кривой (AUC) для тромбоцитов составляло $0,95 \pm 0,04$, $p < 0,001$, что по экспертной шкале (табл. 1) соответствовало отличному качеству прогностической модели. Пороговым значением отсутствия ФП (F0) от фиброза стадий F1-1, обеспечивающим чувствительность 100% и специфичность – 77,8%, было количество тромбоцитов $282 \times 10^9/\text{л}$ в крови пациентов с ХПС (табл. 3).

Рис. 1. ROC- кривые: ○ – тромбоциты; □ – ФНО-α; Δ - альбумин.

Аналогичные данные для ФНО-α: AUC – $0,90 \pm 0,03$, $p < 0,001$, пороговое значение – концентрация в сыворотке крови – 1,9 пг/мл (чувствительность – 100%, специфичность – 73,3%); для альбумина: AUC – $0,86 \pm 0,04$, $p < 0,001$, пороговое значение – уровень в сыворотке крови больных – 47,3 г/л (чувствительность – 96% и специфичность – 73,3%).

Таблица 3.

**Пороговые значения тромбоцитов, АСТ и ФНО-α
для дифференциации стадий фиброза печени у больных ХГС**

Стадии ФП (F)	Предикторы прогрессирования ФП при ХГС		
	Тромбоциты, $\square 10^9/\text{л}$	Альбумин, г/л	ФНО-α, пг/мл
F0 от F1 - 2	282	47,3	1,9
F1 - 2 от F3 - 4	200	44,1	2,8

Таким образом, риск прогрессирования ФП при ХГС, то есть переход от F0 к фиброзу стадий F1-F2 возрастает при значении количества тромбоци-

тов в крови больных менее $282 \times 10^9/\text{л}$, концентрации ФНО- α в сыворотке более 1,9 пг/мл и уровне альбумина менее 47,3 г/л.

При умеренном фиброзе (F1-2) количество тромбоцитов в крови больных ХГС составляет от 200 до $282 \times 10^9/\text{л}$, значение ФНО- α – более 1,9 пг/мл и менее или равном 2,8 пг/мл, уровень альбумина – от 44,1 до 47,3 г/л. Стадия выраженного ФП (F3-4) при ХГС верифицируется при количестве тромбоцитов в крови менее $200 \times 10^9/\text{л}$, уровне альбумина менее 44,1 г/л и значении ФНО- α более 2,8 пг/мл.

Выводы и рекомендации.

1. Предложено уравнение множественной регрессии, позволяющее диагностировать стадию фиброза по трем непрямым лабораторным маркерам: тромбоциты, фактор некроза опухоли альфа и альбумин, которые обладают достаточной статистической значимостью, демонстрируют высокую корреляционную связь с плотностью печени и имеют приемлемую стоимость. Диагностическая чувствительность данной математической модели составила 93,3%, специфичность – 88%.

2. Значение индекса фиброза у пациента с хроническим гепатитом С в интервале от 0 до 0,5 включительно свидетельствует об отсутствии фиброза печени, величина индекса в пределах 0,6-2,5 соответствует умеренной стадии фиброза, а более 2,5 – выраженному фиброзу.

3. Результаты определения тромбоцитов, фактора некроза опухоли альфа и альбумина у лиц с хроническим гепатитом С могут быть использованы в качестве индивидуальных предикторов прогрессирования фиброза печени.

4. Риск прогрессирования ФП, то есть переход от F0 к умеренному фиброзу стадий F1-F2 возрастает при значении количества тромбоцитов в крови больных менее $282 \times 10^9/\text{л}$, концентрации фактора некроза опухоли альфа в сыворотке более 1,9 пг/мл и уровне альбумина менее 47,3 г/л.

5. При переходе от F1-2 к выраженному фиброзу стадий F3-F4 пороговые значения биомаркеров следующие: количество тромбоцитов в крови менее $200 \times 10^9/\text{л}$, альбумин менее 44,1 г/л и фактор некроза опухоли альфа более 2,8 пг/мл.

Список литературы:

1. Власов В. В. Эффективность диагностических исследований. М.: Медицина, 1988. – 256 с.
2. Ивашкин В.Т., Павлов Ч.С. Фиброз печени. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 168 с.
3. Пинцани М. Эволюция фиброза печени: от гепатита к циррозу // Российский журнал гастроэнтерологии гепатологии и колопроктологии. – 2002. – № 5. – С. 4–10.
4. Шелудько В. С., Подлужная М. Я. Теоретические основы медицинской статистики: методические рекомендации. – Пермь, 2001. – 36 с.
5. Boursier J. An extension of STARD statements for reporting diagnostic accuracy studies on liver fibrosis tests: The Liver-FibroSTARD standards / J. Boursier, V. Ledinghen, T. Poynard, L. Guechot, F. Carrat, V. Leroy, G. Wong, M. Friedrich-Rust, M. Fraguelli, M. Plebani, G. Sebastiani, R. Myers, P. Angulo, S. Bertrais, D. Wendum, I. Bricault, P. Cales // J. of Hepatology. - 2015. - № 62. - P. 807-815.
6. Castera L. Non-invasive assessment of liver fibrosis: are we ready? / L. Castera, M. Pinzani // Lancet. - 2010. – Vol. 9724. - № 375. - P. 1419-1420.
7. Liu C.H. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis C by splenic Doppler impedance index / C.H. Liu, S.J. Hsu, J.W. Lin, J.J. Hwang, C.J. Liu, P.M. Yang, M.Y. Lai, P.J. Chen, J.H. Kao, D.S. Chen // Clin. Gastroenterol. Hepatol. – 2007. – Vol. 5. – № 10. – P. 1199–1206.
8. Poynard T. Biomarkers of liver injury for hepatitis clinical trials: a meta-analysis of longitudinal studies / T. Poynard, Y. Ngo, M. Munteanu, D. Thabut, J. Massard, J. Moussalli, A. Varaud, Y. Benhamou, V. Ratziu // Antivir. Ther. – 2010. – Vol. 15. – № 4. – P. 617-631.
9. Poynard T. Noninvasive Markers of Hepatic Fibrosis in Chronic Hepatitis B / T. Poynard, Y. Ngo, M. Munteanu, D. Thabut, V. Ratziu // Curr. Hepat. Rep. – 2011. – Vol. 10. – № 2. – P. 87-97.

References

1. Vlasov V.V. Effektivnost' diagnosticheskikh issledovaniy [Effectiveness of diagnostic tests]. Moscow: Medicina, 1988. 256 p. (in Russian).

2. Ivashkin V.T., Pavlov Ch.S. Fibroz pecheni [Liver fibrosis]. Moscow: GEOTAR-Media, 2011. 168 p. (in Russian).
3. Pintsani M. Evolyutsiya fibroza pecheni: ot gepatita k tsirrozu [Evolution of liver fibrosis: from hepatitis to cirrhosis]. *Rossiyskiy zhurnal gastrojenterologii gepatologii i koloproktologii*, 2002, no. 5, pp. 4–10 (in Russian).
4. Shelud'ko V. S., Podluzhnaya M. Ya. Teoreticheskie osnovy meditsinskoy statistiki: metodicheskie rekomendatsii [Theoretical foundations of medical statistics: methodological recommendations]. Perm, 2001. 36 p. (in Russian).
5. Boursier J., Ledinghen V., Poynard T., Guechot L., Carrat F., et al. An extension of STARD statements for reporting diagnostic accuracy studies on liver fibrosis tests: The Liver-FibroSTARD. *J. of Hepatology*, 2015, no. 62, pp. 807-815.
6. Castera L., Pinzani M. Non-invasive assessment of liver fibrosis: are we ready? *Lancet*, 2010, vol. 9724, no. 375, pp. 1419-1420.
7. Liu C.H., Hsu S.J., Lin J.W., Hwang J.J., Liu C.J., et al. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis C by splenic Doppler impedance index. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, 2007, vol. 5, no. 10, pp. 1199–1206.
8. Poynard T., Ngo Y., Munteanu M., Thabut D., Massard J., et al. Biomarkers of liver injury for hepatitis clinical trials: a meta-analysis of longitudinal studies. *Antivir. Ther.*, 2010. vol. 15, no. 4, pp. 617-631.
9. Poynard T., Ngo Y., Munteanu M., Thabut D., Ratzu V. Noninvasive Markers of Hepatic Fibrosis in Chronic Hepatitis B. *Curr. Hepat. Rep.*, 2011. vol. 10, no. 2, pp. 87-97.

Щёктова Алевтина Павловна, д.м.н., доцент, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики ФДПО ГБОУ ВПО ПГМУ им. ак. Е.А. Вагнера МЗ РФ, тел. 89641857018, e-mail: al_shchekotova@mail.ru

Булатова Ирина Анатольевна, к.м.н., доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ФДПО ГБОУ ВПО ПГМУ им. ак. Е.А. Вагнера МЗ РФ, тел. 89028391780, e-mail: bula.1977@mail.ru

Щёкотов Владимир Валерьевич, д.м.н., профессор, зав. кафедрой внутренних болезней и поликлинической терапии ГБОУ ВПО ПГМУ им. ак. Е.А. Вагнера МЗ РФ; тел. 89091169650, e-mail: healthpro@mail.ru

ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера» Минздрава России, 614990, Россия, г. Пермь, ул. Петropавловская, д.26

Shchekotova Alevtina Pavlovna – Doctor of Medical Science, head of the department of clinical laboratory diagnostics of the faculty of advanced doctors` training, Perm State Medical University named after E.A. Wagner; phone: 89641857018, e-mail: al_shchekotova@mail.ru

Bulatova Irina Anatolyevna - Candidate of Medical Science, associate professor of the department of clinical laboratory diagnostics of the faculty of advanced doctors` training, Perm State Medical University named after E.A. Wagner; phone: 89028391780, e-mail: bula.1977@mail.ru

Shchekotov Vladimir Valeryevich - Doctor of Medical Science, professor, head of the department of internal medicine and outpatient therapy, Perm State Medical University named after E.A. Wagner; phone: 89091169650, e-mail: healthpro@mail.ru

State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Training "Perm State Medical University named after E.A. Wagner" of the RF Ministry of Health, 26, Petropavlovskaya str., 614990, Perm, Russia,